RECHERCHES

SUR

LA LOCALISATION ET LE NEUROTROPISME DU BROME

PAR

Jean COIRRE
DOCTEUR EN MÉDECINE ET EN PHARMACIE

PARIS
IMPRIMERIE GÉNÉRALE LAHURE
9, RUE DE FLEURUS, 9

1921

A. M. le Professeur CARNOT

Hommages de respect
et de reconnaissance.

A mon Maitre et Ami M. le Professeur agrégé

H. HERISSEY

A MA FEMME

RECHERCHES

SUR LA

LOCALISATION ET LE NEUROTROPISME DU BROME

INTRODUCTION

L'action élective qu'exerce le Brome sur le système nerveux reste aussi inexpliquée que celle des autres médicaments neurotropes. En déterminer la raison essentielle semble être au-dessus des moyens dont nous disposons ; mais nous pouvons, sans chercher à pénétrer les phénomènes liés à la vie elle-même, examiner si, après ingestion de composés bromés, le métalloïde se localise de préférence dans le cerveau, s'il abandonne le reste de la molécule avec laquelle il a été introduit, et s'il contracte une nouvelle union avec les éléments des tissus.

Jusqu'ici ces questions n'ont fait, à ma connaissance, en France, l'objet d'aucune recherche digne d'être citée. A l'étranger quelques expérimentateurs ont étudié la localisation du Brome dans les organes, mais les méthodes employées par ces auteurs pour le dosage du Brome manquent de précision.

C'est pour cette raison et aussi à cause du rôle très important que l'on fait jouer maintenant aux lipoïdes dans la cellule vivante, qu'un travail sur la question méritait d'être repris. Les lipoïdes, en effet, en tant que corps gras, fixent facilement le Brome, et, comme ils se trouvent en très grande quantité dans le cerveau, on pouvait penser qu'ils contribuaient, pour une grande part, à assurer l'action spécifique de ce métalloïde.

M. le Professeur Carnot m'ayant prié de résumer l'état de la question et de faire de nouvelles recherches à ce sujet, j'ai, sous sa haute direction, exécuté le travail qui fait l'objet de cette thèse.

Ces recherches, commencées au début de 1914 et interrompues pendant près de six années, m'ont permis de faire quelques constatations intéressantes, et j'espère qu'elles justifieront l'honneur que m'a fait M. le Professeur Carnot en me confiant ce sujet de travail.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma plus vive et respectueuse reconnaissance pour l'accueil que j'ai trouvé auprès de lui et pour les conseils qu'il m'a prodigués.

Le travail est divisé en trois parties :

1re partie : **Étude des recherches antérieures.**

2e partie : **Méthodes de recherches employées.**

3e partie : **Résultats obtenus.**

Dans la première partie, je résumerai d'abord les recherches qui ont été faites sur la localisation et l'élimination du Brome ingéré sous forme minérale (**Chapitre I**).

Bien que la connaissance des travaux concernant l'élimination des bromures n'ait pas un rapport immédiat avec les recherches que j'ai entreprises, elle éclaire cependant un peu la question au point de vue général. Les résultats obtenus sont en rapport avec ce que nous appelons maintenant le seuil de sécrétion, ce seuil jouant

probablement un rôle primordial dans l'action thérapeutique des bromures.

Je résumerai ensuite les recherches faites sur le Brome ingéré sous forme de composé organique (**Chapitre II**).

Ces recherches ont fait l'objet de plusieurs mémoires étrangers qui ont suivi l'apparition, dans la thérapeutique, de quelques dérivés bromés employés comme hypnotiques.

Avant de procéder à la recherche du Brome après ingestion, il fallait se demander si le brome n'existait pas à l'état normal dans l'organisme, et ce dans une proportion suffisante pour fausser les résultats des expériences entreprises.

Je serai donc amené à exposer (**Chapitre III**) les travaux qui ont été faits sur la présence normale du Brome dans les organes de l'homme ou des animaux. Nous verrons que la quantité de Brome normal existant dans les tissus est tellement minime, qu'elle n'entre pas en ligne de compte quand on dose les quantités relativement importantes de brome retrouvé dans les organes après ingestion de composés bromés.

Dans la deuxième partie, j'exposerai les méthodes que j'ai adoptées pour la recherche et le dosage du Brome dans les organes et les tissus. Je détaillerai la méthode de caractérisation du Brome que venaient d'indiquer, presque simultanément, Guareschi en Italie et Denigès en France, méthode devenue un procédé de dosage colorimétrique à la suite des modifications qu'y ont introduites Denigès et Chelle (**Chapitre I**).

J'exposerai ensuite la méthode que j'ai suivie pour la destruction de la matière organique (**Chapitre II**).

Enfin j'indiquerai le procédé employé pour séparer les lipoïdes des albuminoïdes et les essais destinés à séparer dans les organes le Brome inorganique du Brome organique (**Chapitre III**).

Dans la troisième partie, je relaterai les résultats de mes expériences en étudiant d'abord *in vivo* la destinée du Brome ingéré sous forme minérale (**Chapitre I**) et sa localisation suivant les organes et les tissus (§ I).

Je verrai ensuite *in vitro* s'il y a affinité entre les bromures et la substance cérébrale et en particulier entre les bromures et les lipoïdes du cerveau (§ 2).

Passant à l'examen des composés bromés organiques (**Chapitre II**), j'étudierai leur localisation *in vivo* suivant les organes (§ 1).

Je verrai enfin *in vitro* s'il y a affinité entre les composés organiques bromés et les lipoïdes du cerveau (§ 2).

PREMIÈRE PARTIE

EXPOSÉ
DES RECHERCHES ANTÉRIEURES

Le Brome, sous forme de bromure de potassium, a fait son apparition en thérapeutique en 1846. Le bromure de sodium et le bromure d'ammonium constituent avec lui les principaux composés bromés que la chimie minérale a fournis à la thérapeutique.

J'examinerai d'abord les travaux se rapportant à ces **bromures alcalins**.

Je résumerai ensuite les recherches faites sur les **composés bromés organiques,** particulièrement sur le neuronal, le bromural et l'adaline dont l'entrée dans la thérapeutique ne date que de ces dernières années.

CHAPITRE I

LOCALISATION ET ÉLIMINATION

DES BROMURES ALCALINS

Les premières recherches faites à ce sujet reviennent à Rabuteau qui constate que le bromure de potassium s'élimine rapidement et qu'il fait déjà son apparition dans les urines 10 minutes après l'ingestion.

Mais l'élimination totale est lente et il en retrouve dans la salive et dans l'urine plusieurs mois après la fin du traitement.

En 1889, Doyon[1] recherche le Brome chez des épileptiques ayant suivi le traitement bromuré. Il trouve 2 grammes de Br dans le cerveau et seulement 0 gr., 70 dans le foie.

Pelammer, en 1895, montre que chez l'homme, à la suite d'une ingestion de 10 gr. Na Br, 1/6 seulement est éliminé au bout de deux jours.

Buchner[2], quelques années après, dose le Brome chez des chats et des chiens ayant pris des bromures et trouve que ce corps est surtout retenu dans le sang. Il n'en décèle que peu dans le cerveau et pas dans les autres organes.

Laudesheimer[3] étudie l'élimination du Brome chez de jeunes épileptiques en traitement et constate que la plus

1. *Therap. Monats.*, 1889, p. 425.
2. *Dissert.*, Wurzburg. 1898.
3. *Neurol. Centralbl.*, 1897, N. 12.

grosse part des bromures ingérés est retenue un certain temps dans l'organisme.

Je n'ai fait que citer les travaux précédents. Leurs auteurs, pour la plupart, se sont bornés à indiquer des résultats et ont peu insisté sur les méthodes qu'ils avaient employées pour doser le Brome.

Les recherches que je vais exposer maintenant serrent la question de plus près.

M. Nenky et Schoumow-Simanousky[1], instituant des expériences sur des animaux, exposent d'abord leur méthode, qui a pour but de doser le brome en présence du chlore : Un mélange de sulfate et de permanganate de potasse en solution acide ajouté à une solution de bromures et de chlorures libère tout le Brome alors qu'un semblable mélange n'a pas d'action sur les chlorures. Le Brome libéré est entraîné soit par un courant d'air, soit par un courant de gaz carbonique dans de la lessive de potasse. On dose ensuite le bromure de potassium par une des méthodes ordinaires.

Leurs recherches ont porté d'abord sur le suc gastrique : Des chiens traités par 50 grammes environ de bromure de sodium administrés en quinze jours présentent dans leur suc gastrique du Brome en quantité de plus en plus forte, le chlore diminuant parallèlement de quantité jusqu'au quinzième jour. La proportion de Brome commence alors à baisser graduellement pour n'arriver à zéro qu'après quatre mois.

De ces recherches ils concluent :

1° Que HBr peut effectivement remplacer HCl dans le suc gastrique.

2° Que l'acidité du suc gastrique des chiens qui ont reçu NaBr se chiffre environ à 0,50 pour 100 évalué en HCl.

1. *Arch. für experim. Pathol. und Pharmac.*, 54, p. 315-355.

3° Que la présence de HBr paraît augmenter l'acidité totale du suc gastrique. Ce qu'ils expliquent en faisant remarquer « que le poids moléculaire de HBr est plus « élevé que celui de HCl et qu'ils se remplacent « molécule à molécule » (?). A l'appui de cette thèse, ils citent Gruntzer qui dit que les actions pharmacodynamiques des produits médicamenteux ne sont pas en rapport avec leur poids absolu, mais avec leur poids moléculaire. Nous verrons plus loin ce qu'il faut penser de ces conclusions.

Leurs dosages de Br dans les organes sont peu nombreux. Je transcris ci-dessous les résultats qu'ils ont obtenus en faisant ingérer à un chien 44 grammes de bromure de sodium en 10 jours et en sacrifiant le chien trois jours après la fin du traitement.

ORGANES	POIDS DE LA SUBSTANCE		BROME POUR 100 DE SUBSTANCE	
	fraîche.	sèche.	fraîche.	sèche.
Rein	48,92	10,52	0,206	0,957
Muqueuse de l'estomac	43,90	9,72	0,156	0,705
Rate	40,50	10,32	0,095	0,371
Glande lymphatique	7,18	2,40	0,110	0,332
Cerveau	34,70	8,72	0,078	0,314
Pancréas	22,71	6,77	0,075	0,253
Moelle épinière	16,58	5,75	0,064	0,187
Foie	56,91	10,46	0,046	0,165
Muscle	27,59	7,81	0,027	0,096

Fessel[1] étudie également l'élimination et la localisation du Brome après traitement bromuré.

Il expose ses recherches exécutées, dit-il, dans un laboratoire qu'avait fait installer spécialement le Professeur Kunkel et dans lequel on devait rechercher l'effet

1. Über das Verhalten des Broms in Thierkorper. *Münch. medic. Wochens.*, 1899, p. 1270.

toxique, la rétention, l'élimination et la répartition du Brome dans l'organisme.

Après administration de bromure alcalin à des chiens et à des chats, beaucoup plus sensibles à l'action de ce médicament, il recherche le Brome de la manière suivante dans les urines ou les organes : Après alcalinisation et évaporation, il détruit la matière organique par calcination. Les cendres blanches sont reprises par l'acide sulfurique étendu et il recherche le Brome dans le chloroforme après addition d'eau de chlore. Pour les recherches quantitatives, il calcine en ajoutant de l'azotate de soude, reprend les cendres par l'eau, et cette solution est traitée par le nitrate d'argent; il pèse en bloc les bromure et chlorure d'argent. Malheureusement, il ne donne pas d'indications au sujet de la séparation des chlorures et des bromures.

Il administre à un chien pesant 6 kilogs environ 0 gr., 1 de NaBr par jour pendant 17 jours consécutifs. L'élimination commence le premier jour et augmente jusqu'à atteindre 0 gr., 057 pour 24 heures. Après le 17e jour, il donne 0 gr., 4 NaBr pendant 4 jours ; l'élimination passe à 0 gr., 24 par 24 heures.

Du 22 au 58e jour, il donne 1 gramme de NaBr ou KBr, et l'élimination atteint 1 gramme par jour.

D'autres chiens lui donnent des résultats analogues.

Chez un autre sujet il recherche comment s'éliminent les bromures si on donne à ingérer en même temps des chlorures. Les chiffres lui permettent de conclure que dans ce cas le Brome s'élimine plus vite, surtout au début.

Il recherche ensuite sur trois chiens la localisation du Brome suivant les organes.

Je transcris les résultats qu'il obtient dans le tableau suivant.

Il conclut que la quantité de Brome trouvée dans le cerveau n'est pas considérable, ce qui, ajoute-t-il, ne

vérifie pas les expériences de Doyon (précédemment cité).

	1er CHIEN reçoit en tout 14 gr. Br			2e CHIEN reçoit en tout 7 gr., 5 Br			3e CHIEN reçoit en tout 6 gr., 5 Br		
	Poids des organes.	Br en gr.	Cl. en gr.	Poids des organes.	Br en gr.	Cl. en gr.	Poids des organes	Br en gr.	Cl. en gr
Sérum .	51.5	0,0867	0,1067	79	0,1090	0,2401	78	0,1195	0,2515
Globules.	40 0	0,0595	0,0906	101	0,0873	0,2073	98	0,0869	0,1818
Cerveau.	60,0	0,0062	0,0850	59	0,0147	0,0665	63	0,0223	0,0725
Foie . .	89,0	»	»	»	»	»	»	»	»
Rein . .	19,0	0,0194	0,0620	31	0,0144	0,0565	31	0,0147	0,0614
Rate . .	15,0	Traces	0	0	0	0	0	0	0
Bile . .	»	0	0	0	0	0	0	0	0

J'arrive maintenant à l'étude d'un travail beaucoup plus important de Von Wyss[1], travail qui se distingue des précédents en ce qu'il porte sur un bien plus grand nombre de sujets et surtout en ce qu'il décèle chez son auteur le désir de faire œuvre un peu plus scientifique.

Après avoir critiqué le peu de rigueur des méthodes employées auparavant, il s'étend longuement sur celle qu'il a choisie pour caractériser et doser le Brome.

Il a adopté la méthode de Jolles[2] basée sur la coloration rouge que donne le Brome avec une solution acétique de paraphénylène-diamine. Jolles employait un papier trempé dans une solution de ce produit, mais on peut se servir directement de cette solution : une trace de paraphénylène-diamine est placée dans 50 cm. cubes d'eau avec 2 cm. cubes de lessive de potasse et autant d'acide azotique qu'il est nécessaire pour obtenir une coloration maxima. On étend d'eau cette solution et on y introduit le brome. Sa présence se traduit par une colo-

1. *Arc. für experiment. Pathol. und Pharm.*, B. 55, p. 265.
2. A. Jolles. *Wiener. Klin. Rundsch.*, 1892, N. 2.

ration rouge écarlate; une légère coloration ne signifie rien. On évite que du chlore soit entraîné dans ce liquide en ne mettant pour libérer le Brome des bromures alcalins qu'une petite quantité de bichromate de potasse.

Il indique comme limite de la sensibilité de la réaction 1/100 000e pour les solutions examinées : Des solutions pures de bromures lui donnent des résultats positifs à la dilution de 1/200 000e.

Quant à la recherche quantitative, il rejette la méthode de Fresenius dont s'étaient servis Buchner et Fessel; il choisit la méthode employée par Hondo. Pour les urines, il en évapore 200 cm. cubes avec du carbonate de soude et réduit en cendres ; le liquide clair obtenu en reprenant les cendres par l'eau est amené à un volume de 100 cm. cubes. Il le neutralise par l'acide sulfurique étendu. Il met en liberté le brome en ajoutant 2 à 3 grammes de bichromate de potasse et 3 cm. cubes d'acide sulfurique; il entraîne le Brome par un courant d'air, le fait passer dans des solutions d'iodure de potassium, et titre l'iode mis en liberté par l'hyposulfite de soude.

Il prétend que, de cette manière, on entraîne tout le Brome sans que le chlore soit touché. (Ce qui est très difficile à réaliser, comme nous le verrons plus tard.)

Pour le sang il opère de la même façon. Il ne parle pas du traitement des organes. A l'aide de cette méthode, il recherche d'abord l'élimination du Brome en général.

a) Je ne ferai que résumer rapidement les nombreux essais auxquels il s'est livré à ce point de vue. Un malade reçoit, par jour, 4 grammes de bromure de sodium. L'élimination de Br atteint au bout de 4 jours 0,15 pour 100 dans les urines, monte jusqu'à 0,18 pour 100 et présente ensuite, d'un jour à l'autre, des fluctuations diverses jusqu'au 27e jour où cesse le traitement. La quantité éliminée diminue alors, mais l'élimination continue encore pendant des mois après la fin du traitement. Trois épileptiques reçoivent des quantités déterminées de bro-

mures, régulièrement les mêmes tous les jours, ils présentent dans l'élimination une courbe d'abord ascendante, puis assez irrégulière. Si bien que, quand on examine les chiffres, il est frappant de voir l'irrégularité de l'élimination bien que la quantité ingérée soit la même; les chiffres ont cependant des variations en rapport avec la diurèse. Il y a aussi certainement accumulation; je relève, en particulier, les chiffres suivants : au bout de quelques jours chez un malade, ingestion en Br 7 gr., 765, élimination 2 gr., 584; ou encore chez un autre malade, ingestion de Br 15 gr., 52, élimination 3 gr., 46, etc. L'élimination après cessation du traitement diminue, mais d'une façon également irrégulière, en rapport toujours avec la diurèse.

L'auteur cherche à s'expliquer le fonctionnement de cette élimination : il pense à une liaison plus ou moins étroite entre le protoplasme et le Brome; il entrevoit la possibilité d'une barrière, peut-être rénale : c'est ce que plus tard on appellera le *seuil d'élimination*. Il pense que la quantité éliminée par l'estomac et l'intestin est absorbée à nouveau et constitue ainsi, pour une partie du Brome, un cycle fermé.

b) Les recherches portent ensuite sur l'élimination du Brome chez des épileptiques et des sujets normaux.

Il remarque que les épileptiques retiennent plus de Brome que les sujets normaux, mais n'en trouve aucune explication plausible.

c) Il a l'occasion de rechercher chez un épileptique décédé la concentration en Brome de son cerveau.

Ce malade avait reçu, pendant les deux ans qui avaient précédé sa mort, 2 kilogs environ de bromure de potassium. Les dosages de Br donnent les chiffres suivants :

1/2 cerveau (650 gr.) Br = 0 gr.,4853 soit 0,07 pour 100
soit cerveau (1352 gr.) Br = 1 gramme
sang (145 gr.) Br = 0 gr.,2051 soit 0,14 pour 100.

On voit que la quantité de Br trouvé dans le cerveau n'est pas considérable.

d) Von Wyss étudie ensuite l'antagonisme qu'il paraît y avoir entre les sels de chlore et ceux de brome.

Ses conclusions tendent à admettre que l'apport de chlore n'augmente pas l'élimination du Brome, et que l'effet toxique des bromures à haute dose se fait beaucoup moins sentir si l'on fait pénétrer en même temps des chlorures dans l'organisme.

« Il se pourrait, dit-il, que l'absence de chlore permît au Brome de pénétrer davantage dans la cellule et d'y provoquer les symptômes nerveux de l'intoxication ». (?)

e) L'auteur termine son travail par la recherche de « l'accumulation du Brome dans les organes ».

La première recherche porte sur un lapin de 2 kg., 200 qui reçoit, en 11 jours 3 gr., 2 de Na Br, soit en Brome 2 gr., 4844 (doses de 0 gr., 2 en injections sous-cutanées). Au 12e jour, on le tue par saignée. Le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus.

ORGANES	POIDS	QUANTITÉ EN GRAMMES	Br $_{0}/^{0}$.
Sang	10 cm^3,2	0,0920	0,900
Cerveau	8 gr.	0,0716	0,890
Foie	110 gr.	0,0506	0,050
Rein	30 gr.	0,0613	0,097
Urine	2000 cm^3	0,2475	0,012
Rate	»	néant	néant
Bile	»	néant	néant

Le contenu gastrique, ainsi que les excréments, donnent une réaction positive.

Trouvant dans le sang une forte proportion de Br, Von Wyss recherche si cette proportion est plus forte dans le sérum ou dans les globules. Cette deuxième expérience porte sur deux lapins traités comme précédemment et tués le 10e jour par saignée.

Le sang est recueilli, additionné d'oxalate d'ammonium. Il y a un peu plus du tiers de globules par rapport au sérum.

	1er lapin	2e lapin
Sérum. .	Brome : 0,6540 pour 100	Brome : 0,5608 pour 100
Globules.	Brome : 0,2455 pour 100	Brome : 0,1139 pour 100

Le sérum contient donc plus de Br que les globules.

Résumant les recherches précitées, l'auteur est frappé de la quantité appréciable de brome qu'il trouve dans le cerveau.

Il recherche alors *in vitro* si les bromures se fixent sur le cerveau. A cet effet, il prend deux cervelles de mouton fraîches, il les triture et en place d'égales quantités dans des éprouvettes cylindriques; il les agite avec des solutions de bromures (Na Br 1 pour 100) en ajoutant du sulfate de magnésie, pour obtenir une solution isotonique.

Après avoir laissé reposer, il mesure la hauteur relative du dépôt et du liquide et dose le Brome pour chaque partie. Les chiffres de brome trouvés étant à peu près dans le même rapport que celui des hauteurs, il conclut que les bromures ne se fixent pas sur le cerveau.

Deux ans après ce premier travail, Von Wyss[1] aborde à nouveau l'étude de la destinée du Brome dans l'organisme. Il cherche à préciser comment se répartit le Brome dans le cerveau, suivant l'hydratation de ce dernier. Il conclut de quelques expériences peu décisives qu'il n'y a pas surcharge de Brome pour la matière cérébrale par rapport au milieu liquide.

L'antagonisme du chlore et du Brome appelle encore son attention : il signale qu'il y a abaissement de la quantité des chlorures à la suite de l'ingestion de bromures; que l'abaissement du taux des chlorures dans le

1. Über das Verhalten der Bromsalze, *Arch. für experim. Pathol. und Pharmac.*, B. 59, 1908, p. 186.

cerveau va de pair avec l'abaissement des chlorures dans le sang; que le Brome se substitue au chlore en quantité telle qu'il n'en résulte aucun changement pour le bilan des halogènes.

Tel est le résumé, au point de vue qui nous intéresse, du travail de Von Wyss. Ce sont, parmi celles que nous avons passées en revue, les seules recherches dignes d'intérêt concernant la destinée du Brome en combinaison métalloïdique, après son introduction dans l'organisme.

Je cite en dernier lieu le travail de Bernoulli[1] paru quelques années plus tard. Il recherche le chlore et le Brome dans le cerveau de lapins.

Sa méthode de dosage est peu précise. Après destruction de la matière organique en présence de soude et de nitrate de potasse, il précipite les chlorures et les bromures par le nitrate d'argent; pèse le précipité; puis, chassant le Brome, pèse à nouveau et peut déterminer ainsi le poids des bromures.

Ces expériences donnent, comme teneur moyenne du cerveau, en Brome : 50 milligrammes pour 100 gr. et du sang 45 mg., 90.

J'examinerai plus loin ce qu'il faut penser de ces quelques travaux, et je passe à l'exposé des études faites sur les composés bromés organiques.

1. *Arch. für experim. Pathol. und Pharmacol.*, B. 73, p. 355.

CHAPITRE II

LOCALISATION ET ÉLIMITATION DU BROME

EN COMBINAISON ORGANIQUE

Jusqu'en 1911, la recherche du Brome introduit dans l'organisme après son administration sous forme de composé organique n'a fait l'objet d'aucun travail sérieux.

Coronedi et Marchetti[1], puis Hermansohn[2] recherchent dans les urines le Brome ingéré sous forme d'huile bromée. Bilinkis[3], en 1910, recherche le brome organique et inorganique éliminé dans les urines.

En 1911, A. Ellinger et Y. Kotake[4] exposent les résultats d'un travail sur « la localisation du Brome dans l'organisme après ingestion de Brome organique et inorganique ».

Ce sont, à ma connaissance, les seuls auteurs qui aient cherché à comparer la localisation et l'élimination du Brome suivant que l'on administrait ce corps sous forme de combinaison minérale ou organique.

J'ai fait figurer le résumé de leur travail au chapitre II, car ils ont surtout approfondi la question de la destinée du brome organique. Pour ces expérimentateurs,

1. Coronedi et Marchetti. *Lo Sperimentale*, 56. p. 311, 1902.
2. Hermansohn. *Dissert.* Wurzburg, 1905.
3. Bilinkis. *Therap. Monatsh.*, 24, p. 75, 1910.
4. A. Ellinger et Y. Kotake. *Arch. für experim. Pathol. und Pharm.*, B. 65, 1911.

on peut attendre deux effets des préparations bromées organiques : ou bien elles agissent par le Brome qu'elles libèrent, et alors leur action se rapproche de celle des bromures; ou bien la préparation organique totale agit directement sur le système nerveux. Après les expériences faites au sujet du rapport qu'il y a entre l'action des narcotiques de certains groupes alcooliques et leur solubilité dans les lipoïdes, il vient à l'idée de rechercher la localisation sur le système nerveux de produits bromés solubles dans ceux-ci.

Ellinger et Kotake choisissent pour leurs recherches : d'une part, le bromure de sodium, d'autre part, la sabromine, sel de calcium d'acide gras dibromé $\begin{matrix} C^{22}H^{41}Br^2O^2 \\ C^{22}H^{41}Br^2O^2 \end{matrix} \diagdown\!\diagup Ca$: dibromobéhénate de calcium et le zimtesterbromid, ou éther éthylique de l'acide dibromocinnamique.

Leurs expériences portent sur des chiens et des lapins, par série de trois; ils reçoivent chacun un des trois produits en quantité telle que la teneur en Brome ingérée soit la même par kilog d'animal.

Ils emploient la méthode de dosage suivante : calcination de la matière organique en présence de carbonate de potasse et de soude, dosage des halogènes par la méthode de Vohlard, puis du Brome par la méthode de Von Wyss (*loco citato*). Ils indiquent qu'ils ont dû modifier légèrement cette dernière. Ils chauffent le récipient dans lequel se trouve le mélange de chlorures et de bromures, additionnés de bichromate de potasse et d'acide sulfurique, au bain-marie entre 50° et 60°, ce qui abrège de quelques heures l'entraînement du Brome. A titre d'essai, ils font un mélange de 5 cm^3 de solution décinormale de chlorure de sodium et de 2 cm^3, 85 de solution décinormale de bromure de sodium. Ce mélange est étendu à 100 cm^3 et traité par 6 cm^3 d'acide sulfurique concentré et 5 grammes de bichromate de

potasse. Si on dose le Brome entraîné à froid ou à chaud dans une semblable solution, on gagne trois heures, si on opère à chaud, disent-ils.

Au point de vue de l'élimination, ils constatent que si la constante de l'élimination dans les urines est obtenue, comme à l'ordinaire, au bout de huit jours avec le bromure de sodium, elle n'est atteinte que beaucoup plus tard avec les deux autres produits.

Au point de vue de la localisation, je transcris ci-dessous le résumé des résultats obtenus par ces auteurs dans la recherche du chlore et du Brome suivant les différents organes.

Coup d'œil d'ensemble sur la localisation des halogènes dans l'organisme après ingestion des préparations bromées

ORGANES	BROMURE DE SODIUM		ETHER CINNAMIQUE BROMÉ		SABROMINE	
	% Cl.	% Br	% Cl.	% Br	% Cl	% Br.
Sang	0,131	0,334	0,179	0,300	0,230	0,142
Moelle	0,039	0,231	0,047	0,065	0,050	0,511
Cartilages	0,096	0,213	0,059	0,100	0,054	0,204
Rein	0,108	0 206	0.164	0,117	0,123	0,193
Poumon	0,079	0,198	0,115	0,184	0,168	0,145
Peau	0,170	0,183	0.115	0,163	0,167	0,195
Os	0,075	0,169	0,079	0,121	0,066	0,121
Suc gastrique	0 117	0,139	0,105	0,148	0,096	0,110
Cerveau	0,070	0,132	0,087	0,118	0,097	0,060
Muscle	0,041	0,084	0,024	0,041	0,045	0,132
Foie	0,050	0,080	0,052	0,104	0,086	0,555
Suc intestinal	0,100	0,065	0,056	0,181	0 054	0,121
Graisse	0,015	0,063	0,010	0,005	0,025	1,130

De ces chiffres, on peut tirer la conclusion suivante : c'est que, quelle que soit la combinaison bromée étudiée, le Brome paraît remplacer le chlore dans les organes. Il

faut admettre, par conséquent, qu'il y a décomposition des composés bromés organiques et que le Brome se comporte ensuite comme s'il avait été ingéré sous forme de bromure. Pour confirmer cette hypothèse, il s'agit de savoir sous quelle forme on retrouve le Brome dans les urines. Les auteurs décrivent la méthode qu'ils ont imaginée pour séparer le Brome organique du Brome inorganique en traitant par l'éther. Nous aurons l'occasion de revenir sur cette méthode plus loin.

Les urines d'un chien ayant reçu du zimtesterbromid sont donc épuisées par l'éther, et la solution éthérée contient 0 mg., 9 de Br pour 50 cm^3. Ils considèrent ce brome comme lié à la molécule organique.

Un autre chien reçoit de la sabromine : les urines contiennent 102 milligrammes de Brome total contre 7 milligrammes de Brome entraîné par l'éther.

Ellinger et Kotake notent encore, dans d'autres expériences, l'influence de l'élimination du chlore sur celle du Brome pour les trois produits.

Ils concluent qu'en ce qui concerne la répartition du bromure de sodium, les résultats sont conformes à ceux des recherches antérieures, que l'organe qui normalement est le plus riche en chlore se trouve être celui qui est le plus riche en brome, que le pourcentage du Brome dans le sang est plus élevé lorsque l'animal est tué 24 heures seulement après la dernière ingestion.

Le Brome, dans le zimtesterbromid, paraît se comporter comme dans le bromure de sodium.

Avec la sabromine, au contraire, on retrouve bien moins de Brome dans le sang. C'est le foie qui en contient le plus.

L'apparition dans la thérapeutique de nouveaux composés organiques bromés doués de propriétés hypnotiques a déterminé des recherches sur la localisation du Brome lorsqu'il pénètre dans l'organisme attaché à ces nouveaux véhicules : le bromural, le neuronal, l'adaline

sont les principaux représentants de ces nouvelles combinaisons[1].

V. D. Eeckout[2] avait, le premier, signalé que le bromural, malgré son action hypnotique, ne se retrouve pas en grande quantité dans le cerveau. Takeda[3] reprend cette question et étudie d'une façon plus générale, dans un long travail, la répartition et la décomposition du bromural dans l'organisme.

Il fait d'abord un exposé des méthodes de recherche qu'il a employées. Le bromural est décelé par le Brome qui sert à le caractériser. Après destruction de la matière organique en milieu alcalin, le Brome est dosé colorimétriquement dans le chloroforme en le déplaçant de sa combinaison minérale par l'eau de chlore. L'auteur prétend que le dosage donne de bons résultats entre 0 gr., 0001 et 0 gr., 0002 de Br. Nous verrons plus loin ce qu'il faut penser de cette assertion.

Pour déterminer sous quel état le Brome se trouve combiné dans les organes, il traite ceux-ci après les avoir hachés, mais sans les dessécher, par l'alcool à 90°, au bain-marie d'abord, puis dans un appareil de Soxlhet. Il épuise jusqu'à ce que l'alcool ne dissolve plus rien. L'extrait alcoolique est évaporé et repris par l'eau (il n'indique pas la quantité), puis, sans filtration préalable, agité avec de l'éther (il ne dit ni combien de fois ni avec quelle quantité).

Du fait de ce traitement, il y a pour chaque organe ou tissu.

1° Le résidu après traitement par l'alcool;

2° La portion soluble dans l'alcool, mais insoluble dans l'éther;

1. Bromural : monobromoisovalérianylurée. Teneur en brome : 35 pour 100;
Neuronal : diéthylbromacétamide. Teneur en brome : 41 pour 100;
Adaline : bromodiéthylacétylurée. Teneur en brome : 33 pour 100.
2. *Arc. für experim. Pathol. und Pharmac.*, B. 57, 1907, p. 338.
3. *Arch. de pharmac. et thérapie*, t. 21, 1911, p. 205.

3° La portion soluble dans l'éther.

Dans la première fraction devrait se trouver l'albumine bromée, dans la deuxième les bromures, dans la troisième le Brome à l'état de bromural.

N'ayant jamais trouvé de Brome dans la première portion, il ne parlera dans la suite que des deux dernières qu'il désignera pour plus de clarté, par les appellations : extrait alcoolique et extrait éthéré ». C'est dans ces deux extraits qu'il dose le brome, comme il a été dit précédemment.

De nombreuses recherches ont été faites, en variant les conditions des expériences, sur des lapins et des chiens. Malheureusement, comme je l'indiquerai plus loin, les méthodes de dosage du Brome et de séparation des composés bromés laissent beaucoup à désirer.

Je me contenterai donc de noter brièvement quelques-uns des résultats obtenus, avec les observations qui les accompagnent.

Un chien et quatre lapins reçoivent du bromural. Les résultats des dosages de Br sont transcrits au premier tableau de la page suivante.

Il est à remarquer que l'extrait éthéré du cerveau contient beaucoup plus de Brome que les autres organes. C'est le contraire pour l'extrait alcoolique. Cette remarque, dit l'auteur, appelle cette conclusion que le bromural se fixe au maximum sur le système nerveux.

D'ailleurs moins l'animal a vécu après l'ingestion plus on retrouve, dans les organes, de brome organique (Brome de l'extrait éthéré).

Le processus destructif est fonction du temps, et en même temps différent suivant les organes, le cerveau étant celui qui décompose le moins vite le bromural. D'ailleurs l'effet hypnotique marche de pair avec la quantité de bromural non décomposé dans le cerveau, d'après d'autres expériences qu'il me semble inutile de relater, vu leur peu de précision.

ANIMAL	ORGANES	EXTRAIT ALCOOLIQUE		EXTRAIT ÉTHÉRÉ		TOTAL
		gr. Br	% Br	gr. Br	% Br	% Br
Chien de 4 kg 470 reçoit 4 gr de Bromural	Cerveau. 10 gr. 4	0,0013	0,0125	0,0013	0,0125	0,0250
	Foie. 68 gr.	0,0141	0,0207	0,0034	0,0050	0,0257
	Graisse. 27 gr.	0,0056	0,0207	0,0006	0,0022	0,0229
	Muscle. 100 gr.	0,0086	0,0086	0,0022	0,0022	0,0108
Lapin de 2 kg 900 reçoit 2 gr 9 de Bromural	Cerveau. 9 gr. 5	0.0011	0,0116	0,0003	0,0032	0,0148
	Sang. 115 gr. 5	0,1099	0,0952	0,0009	0,0008	0,0960
	Foie. 65 gr. 5	0,0163	0.0249	0,0002	0.0005	0.0252
	Muscle. 100 gr.	0,0105	0,0105	0.0005	0,0005	0,0108
Lapin de 3 kg 200 reçoit 3 gr de Bromural	Cerveau. 9 gr. 7	0,0011	0,0113	0,0002	0,0022	0,0135
	Sang. 27 gr.	0,0161	0,0596	0.0002	0,0007	0,0605
	Foie. 30 gr.	0,0067	0,0223	0,0001	0,0003	0.0108
	Muscle. 50 gr.	0,0052	0.0104	0,0002	0,0004	0,0108
	Graisse. 27 gr. 5	0,0085	0,0309	0.0001	0,0004	0.0313
Lapin de 1 kg 970 reçoit 4 gr de Bromural	Cerveau. 9 gr. 2	0.0013	0,0141	0,0005	0,0054	0,0195
	Foie. 30 gr.	0,0064	0,0213	0,0003	0,0010	0,0223
	Sang. 30 gr.	0,0171	0,0567	0,0001	0,0003	0.0570
	Muscle. 50 gr.	0,0056	0,0112	0,0010	0,0020	0,0132
Lapin de 2 kg 150 reçoit 6 gr de Bromural	Cerveau. 9 gr. 9	0,0007	0,0070	0,0008	0,0080	0,0150
	Foie. 10 gr.	0.0030	0,0300	0,0006	0,0060	0,0360

Des essais *in vitro* montrent que le bromural mélangé à du foie de lapin est détruit dans la proportion de 75 pour 100 en 30 minutes et de 90 pour 100 en 3 heures. Le cerveau a une action destructive plus lente ; je transcris les chiffres obtenus par l'auteur dans le tableau ci-dessous :

ORGANES	DURÉE DE LA digestion.	BROME % D'ORGANE DANS l'extrait alcoolique.	BROME % D'ORGANE DANS l'extrait éthéré.	TOTAL
Foie.	0h30′	0,0274	0,0075	0,0349
	3h	0,0316	0,0025	0,0341
Cerveau. . .	1h30′	0,0051	0,0332	0,0383

Il conclut que c'est grâce à cette longue conservation de la molécule *bromural* dans le cerveau que ce composé doit l'intensité de son action hypnotique.

L'adaline a été l'objet d'un premier travail de Filippi, relaté par Impens[1]. Filippi ne donne pas grands détails sur sa méthode de recherche. Il ne retrouve de Brome à l'état organique ni dans le cerveau, ni dans les urines.

Quelques mois plus tard, Impens (*loco citato*) étudie l'élimination de l'adaline et cherche à préciser sous quelle forme ce corps est éliminé. Il s'étonne des résultats négatifs obtenus par Filippi et fait l'exposé de sa méthode de recherche : pour doser le Brome inorganique, il traite les urines par une quantité suffisante de nitrate d'argent. Le précipité argentique de chlorure et de bromure d'argent est dissous dans l'ammoniaque. La solution obtenue est réduite par le cadmium en poudre, débarrassée de la plus grande partie de l'ammoniaque au bain-marie, filtrée, neutralisée par l'acide sulfurique, puis légèrement acidifiée par le sulfate acide de potassium. Le Brome est libéré par le permanganate de potasse et entraîné, à la température de la pièce, par un courant d'air dans des flacons contenant de l'iodure de potassium. On titre l'iode mis en liberté.

Pour la recherche et le dosage du brome organique, il reprend l'urine par l'éther ; l'extrait éthéré est évaporé et calciné en milieu alcalin et il dose le Brome par la méthode précédente.

Les urines d'un chien ayant ingéré 5 grammes d'adaline, à raison de 0 gr., 50 par jour, sont réunies, alcalinisées faiblement et traitées par l'éther. L'extrait éthéré est lavé à l'eau. Impens retrouve dans cet extrait le Brome organique, mais la petite quantité de produit obtenu ne lui permet pas, dit-il, de le caractériser autrement.

1. *Die Therapie der Gegenwart*, 1912, p. 157.

Après l'extraction éthérée, les urines sont traitées par le nitrate d'argent, comme il est indiqué ci-dessus, et il retrouve dans le précipité d'assez fortes quantités de brome représentant le Brome inorganique.

Les urines d'un autre chien sont traitées de la même façon.

L'extrait éthéré laisse un résidu amorphe qu'il reprend par l'eau ; la substance cristallise par refroidissement, mais la quantité est si minime qu'elle ne peut être identifiée ; cependant, chauffée avec une solution de soude, elle dégage une odeur ammoniacale ; elle contient du Brome et l'auteur pense que c'est probablement de l'adaline.

Il fait aussi quelques recherches chez l'homme et conclut que le Brome est éliminé surtout sous forme inorganique.

Il remarque que, *in vitro*, l'adaline en présence de soude n/10 est détruite dans la proportion de 75 pour 100.

Rappelant les recherches de Takeda (*loco citato*), il pense qu'il n'y a pas de raison pour que l'adaline ne se comporte pas comme le bromural.

Il ne pousse pas plus loin la comparaison entre ces deux produits. Cette question est reprise par d'autres auteurs et en particulier par Kwan[1] qui publie une étude comparative sur l'action hypnotique et la décomposition intravitale de l'adaline, du bromural et du neuronal. (Voir la note page 20). Il étudie d'abord l'effet hypnotique de ces produits, puis recherche la teneur en Brome du cerveau, après ingestion.

Il emploie la méthode de Takeda (*loco citato*) et sépare comme lui le Brome organique du Brome inorganique, dans les différents organes, par l'éther. Il donne les quantités d'eau et d'éther qu'il emploie dans ses extractions, ce que n'avait pas fait le premier auteur.

1. *Arch. de Pharmacodynamie*, t. 22, 1912.

Il s'exprime ainsi : Le cerveau est réduit en bouillie après addition de la moitié de son poids d'eau et agité trois fois avec quinze parties d'éther (je suppose que cela veut dire trois fois de suite avec chaque fois quinze parties d'éther). On sépare la partie éthérée de la partie aqueuse. Chaque partie est traitée par de la lessive de potasse, évaporée, incinérée. On dose le Brome colorimétriquement : le Brome de l'extrait éthéré représente pour lui, comme pour le précédent auteur, la partie non modifiée de la molécule bromée, le résidu aqueux ayant conservé le Brome déjà transformé en bromure.

PRODUIT	POIDS DE L'ANIMAL EN GR.	ATTITUDE DE L'ANIMAL	POIDS DU CERVEAU EN GR.	BROME ORGANIQUE		BROME INORGANIQUE	
				dans l'essai.	% en mg.	dans l'essai.	% en mg.
Lapin : Dose de narcotique : 1 gr. par kg. Tué après 10′, par saignée.							
Adaline	2710	Rien à remarquer.	8,0	Traces[1]	—	0	0
	2060		8,0	Traces	—	0,00020	0,0023
Bromural	2120	Après 5′, démarche hésitante	8,5	0,00056	0,0065	0,00020	0,0023
	2450	Rien à remarquer	7,0	Traces	—	—	—
Neuronal	1850	Dort après 8 minutes.	7,6	0,00060	0,0053	0,00020	0,0026
	2720	Dort après 7 minutes.	8,1	0,00048	0,0057	0,00020	0,0026
Lapin : Dose de narcotique : 1 gr. par kg. Tué dès qu'il commence à dormir.							
Adaline	2270	Dort après 30′.	9,0	0,00036	0,0038	0,00020	0,0022
	2180	— 40′.	9,3	0,00034	0,0037	0,00013	0,0014
Bromural	2080	— 25′.	8,0	0,00034	0,0043	0,00020	0,0025
	1840	— 18′.	7,5	0,00027	0,0056	0,00013	0,0017
Neuronal	1820	— 6′.	8,0	0,00064	0,0080	Traces	—

1. Traces veut dire que la quantité de Brome est inférieure à 0gr.,000067.

Les chiffres transcrits dans le tableau précédent résument les résultats du dosage du Brome dans le cerveau après ingestion des trois produits bromés.

De l'examen des chiffres, Kwan conclut que le neuronal agit plus vite sur la substance cérébrale et s'y fixe en plus grande quantité que les deux autres composés.

Pour les autres organes, il ne tire de ses dosages aucune conclusion intéressante, si ce n'est que dans le foie il trouve plus de Brome inorganique que dans les autres organes, conclusion qu'avait déjà formulée Takeda pour le bromural.

Je termine l'exposé des recherches sur les composés bromés dans l'organisme par les travaux de Gessler[1]. Cet expérimentateur ayant remarqué que c'est surtout dans le sang que l'on retrouve les produits bromés, et que cela fausse les quantités de Brome trouvées dans les organes, tue les animaux en expérience par saignée, lave leur circulation avec du sérum isotonique et dose le brome, après destruction de la matière organique, en déplaçant Br des bromures par l'eau de chlore.

Il fait ingérer du neuronal à 4 chiens, désignés par les lettres A. E. G. J.

CHIENS	A	E	G	J	MOYENNE EN MILLIG. Br
Quantité absolue.	13,2	15,1	13,9	16 3	14,62
— % de cerveau.	20,3	21,25	22,8	28,1	23,11
— donnée par kg d'animal. . .	100,0	100,0	150,0	150,0	125, 0

Le poids du cerveau représentant chez ces animaux environ 1 pour 100 du poids total, la quantité de brome trouvée dans le cerveau serait donc à peu près le double

1. *Arch. für experiment. Pathol. und Pharmac.*, t. 77, 1914, p. 161 et t. 79, 1915, p. 42.

de la quantité de Brome ingérée par 100 gr. d'animal.

Ce quotient de partage entre le cerveau et le reste du corps lui paraissant intéressant à préciser, il recommence ses recherches, mais en ne tenant compte que de la partie du corps qui fonctionne véritablement : le protoplasme sensible au narcotique, dit-il.

Il défalquera dorénavant du poids total les os, la peau, le contenu de l'estomac et de l'intestin : distinction bien arbitraire, surtout en ce qui concerne la peau, organe d'élimination.

Je résume en un tableau les chiffres de dosage de brome qu'il trouve dans le cerveau en faisant ingérer à des chiens des composés organiques bromés :

COMPOSÉ BROMÉ	SUJETS	POIDS DU CERVEAU en gr.	BROME % DANS LE CERVEAU en milligr.	RAPPORT DU BROME DANS 100 GR. DE CERVEAU au brome dans 100 gr. d'organes sélectionnés.
Neuronal 0 gr. 1 par kilog.	1er chien	65	22,6	2,0
	2e —	85	22,9	1,3
	3e —	98	25,0	1,1
Bromural 0 gr. 25 par kilog.	1er chien	65	40.5	2,6
	2e —	78	32,6	1,1
	3e —	82	38,4	1,4
Adaline 0 gr. 25 par kilog.	1er chien	74	35,5	1,4
	2e —	50	24,9	1,1
	3e —	96	38,5	0,8

On peut s'étonner des chiffres considérables de Br retrouvé dans le cerveau par cet auteur. Malgré cela il dit : Le rapport moyen de la teneur en Brome dans 100 gr. d'organes et dans 100 gr. de cerveau est peu supérieur à l'unité ; le cerveau contient donc un peu plus de brome que les autres organes, mais pas dans la proportion que l'on pourrait supposer (!).

Tel est, résumé dans ses plus importants travaux, l'état des recherches sur le sujet qui nous intéresse.

J'indiquerai, dans la deuxième partie de ce travail quelle valeur médiocre il faut attacher aux résultats obtenus par les méthodes utilisées par ces auteurs.

Avant d'aborder la recherche du Brome dans les tissus vivants après son administration, une question préalable se pose: le Brome existe-t-il normalement dans l'organisme.

L'étude de cette question sera résumée dans le chapitre suivant.

CHAPITRE III

LE BROME EXISTE-T-IL NORMALEMENT DANS LES ORGANES ?

La recherche du Brome dans les organes à l'état normal a fait depuis longtemps déjà l'objet d'assez nombreuses recherches qui ont abouti souvent à des résultats contradictoires.

Je ne résumerai pas l'historique de cette question, très bien traitée dans les deux récents travaux parus à ce sujet, les seuls qui méritent d'être pris en considération et dont je vais exposer les résultats.

Je signale toutefois que, parmi les recherches faites il y a une quinzaine d'années, on remarque celles de Pibram, qui ne trouve pas de Brome normal dans les organes, et celles de Justus, qui en trouve partout.

En 1912, M. Labat[1] après avoir fait la critique des méthodes de dosage du Brome employées précédemment choisit un procédé très sensible de caractérisation du brome en présence d'iode et de chlore : c'est la méthode de Baubigny et Rivals[2], légèrement modifiée par lui. Le

1. Introduction à l'étude de la présence du brome dans les organes de l'homme. *Thèse Bordeaux*, 1912.
2. *C. R.* 1897, t. 124, p. 859 et 954 ; t. 125, p. 654.

Brome libéré à l'état de vapeurs passe dans une solution de fluorescéine et la colore en rouge en donnant de l'éosine. La réaction est sensible pour une dose de 0 millig., 025 de brome. Je n'insisterai pas sur cette méthode que je n'ai pas utilisée. Pour détruire la matière organique, l'auteur emploie la magnésie, indiquée autrefois par Geneuil. J'ai suivi à ce point de vue la technique de M. Labat et j'exposerai ce procédé plus loin.

Je passe au chapitre dans lequel sont consignés les résultats de la recherche du Brome dans les organes de l'homme.

Les recherches sur le corps thyroïde se résument ainsi : 16 corps thyroïdes, sur 24 examinés, contiennent du brome dans une proportion qui varie de 2 millig., 560 pour 100 à 0 millig., 156 pour 100. Pour les six glandes où il n'en a pas trouvé, l'auteur pense, qu'ayant opéré sur des quantités relativement faibles, il se trouvait au-dessous de la limite de Brome décelable par le réactif.

Dans les autres organes, M. Labat ne retrouve pas de brome.

Je transcris, au sujet du cerveau, organe qui nous intéresse spécialement, ce qu'il écrit[1] :

« Étant donnée l'action manifeste de la médication « bromée sur le système nerveux, on pouvait s'attendre « à trouver des quantités de brome très appréciables « dans cet organe. Afin de m'en assurer, j'ai opéré sur « des quantités de cerveau relativement considérables : « 280 grammes dans un cas, 260 grammes dans un « second. En réalité, l'expérience a montré qu'il n'en « était rien. Les quantités de brome trouvées sont extrê-

1. Labat, *loco citato*, p. 62.

« mement faibles et varient entre 0 millig., 015 et « 0 millig., 020 pour 100. ».

Dans la poudre d'hypophyse, il trouve 0 millig., 229 de brome pour 100 d'organe considéré comme frais.

Dans les urines, il retrouve de 2 à 3 mg. de brome par litre.

En 1913 il confirme[1] ces résultats, après avoir refait ses expériences avec le nouveau réactif plus sensible du brome, dont nous parlerons.

Je considérais donc, en ce qui concernait mes recherches futures, que, même s'il existait un peu de Brome normal dans les tissus, la quantité en était si minime que l'on pouvait la négliger.

J'avais à peu près terminé mon travail, lorsque fin 1920 M. Damiens commença la publication de ses recherches concernant le Brome existant normalement dans les tissus animaux[2]

Après avoir fait l'historique et la critique des méthodes employées précédemment pour la caractérisation et le dosage du Brome, l'auteur expose la méthode qu'il a choisie : c'est celle de Denigès et Chelle sur laquelle nous avions également, M. le Professeur Carnot et moi, porté notre choix en 1914[3], c'est dire que nous avons grande confiance dans les résultats qu'elle donne. Cette méthode, légèrement modifiée par M. Lebeau[4] permet d'obtenir des dosages assez précis entre 0 millig., 005 et 0 millig., 01 de Br dans l'essai. M. Damiens expose minutieusement les précautions prises par lui pour éviter les causes d'erreur et passe à l'application. Ses essais faits sur les organes de l'homme et des animaux

1. *C. R. Ac. Sc.*, 156, p. 255.
2. *Bull. Scienc. pharmac.* (déc. 1920, février-mars 1921) et *Bull. Soc. chim. biolog.* (avril 1921).
3. P. Carnot et J. Coirre, *C. R. Soc. biol.*, t. LXXVI, n° 14, p. 641 1914.
4. Rapport n° 200. Inspect. étud. chim., mars 1916.

montrent que « la présence du Brome est constante dans tous les organes examinés ».

Les chiffres accusent des quantités atteignant souvent 0 millig., 50 de Brome pour 100 d'organe frais. Bien que les quantités de Brome dosé dans mes recherches ne soient pas de même ordre de grandeur, puisque j'introduis le brome en quantité assez considérable dans l'organisme, je devrai tenir compte des résultats ci-dessus quand mes dosages ne décèleront dans les organes que des quantités voisines de 1 milligr. pour 100 grammes d'organes. On verra d'ailleurs qu'un pourcentage aussi faible n'a guère de signification dans les recherches que j'ai entreprises.

DEUXIÈME PARTIE

MÉTHODES DES RECHERCHES

CHAPITRE I

DOSAGE DU BROME

Avant d'exposer la méthode que nous avons choisie pour doser le brome dans les organes après son administration, nous indiquerons brièvement pourquoi il faut rejeter les méthodes qui ont été employées dans les travaux que j'ai résumés dans le 1er et le 2e chapitre de la première partie.

Deux méthodes de dosage sont en présence, si on ne tient compte que des travaux véritablement sérieux sur le sujet qui m'occupe :

1° Libération du Brome par le bichromate de potasse et l'acide sulfurique, entraînement par un courant d'air dans une solution d'iodure de potassium et dosage de Br par l'iode déplacé (Nenky, Impens, Von Wyss).

2° Dosage colorimétrique, dans le chloroforme, du Brome des bromures libéré par l'eau de chlore (Fessel, Ellinger, Takeda, Kwan).

Dans le premier procédé, ou bien la libération du brome n'est pas complète, si on ne prolonge pas assez longtemps le traitement, ou bien du chlore, des chlorures, toujours présents en quantité notable, se trouvent entraînés lorsque tout le Brome a déjà passé.

Nous avons fait des essais concluants à ce sujet.

L'imperfection de cette méthode avait d'ailleurs certainement été constatée par quelques-uns des auteurs qui l'avaient employée.

Ellinger et Kotake, au lieu de faire durer cinq heures l'entraînement du Brome, comme Von Wyss, chauffent au bain-marie pour abréger cette durée. Si V. Wyss craint de laisser du Brome, ces derniers pèchent par excès contraire et entraînent du chlore.

Dans le second procédé, le dosage colorimétrique du Brome dans le chloroforme, après déplacement par l'eau de chlore, est peu sensible et d'un maniement très délicat.

La méthode est peu sensible : nous avons pu nous rendre compte que, pour un milieu relativement complexe comme celui des cendres provenant de la destruction des organes, la limite de cette sensibilité se trouvait environ à 1/2 milligramme, par prise d'essai. Et surtout la méthode est d'un maniement délicat : si on ne met pas assez d'eau de chlore on pèche par défaut; si on en met trop, on obtient une coloration jaune du chloroforme, que l'on confond avec la coloration jaune orange produite par le Brome.

Devant les défectuosités de ces procédés, nous avons choisi, M. le professeur Carnot et moi, une méthode nouvelle de dosage du brome, qui venait de faire son apparition dix-huit mois auparavant et qui est aussi sensible que facile à mettre en œuvre.

En 1912, Guareschi[1] en Italie, et en même temps

1. *Att. R. Acc. delle Scienze de Torino*, t. LXVII, 1912.

M. Denigès[1] en France, indiquaient une nouvelle réaction très sensible, permettant de caractériser de très faibles quantités de brome.

Grâce à une heureuse modification apportée dans la suite, par MM. Denigès et Chelle[2], dans cette réaction, celle-ci devenait quantitative. Je vais exposer en quoi elle consiste.

Le Brome libre en solution, même à très faible dose, colore en violet une bande de papier imprégnée de réactif de Schiff (fuchsine bisulfitée), tel est le point de départ de la méthode. Elle ne permettait que des recherches qualitatives. Denigès et Chélle peu de temps après, remplacent le papier imprégné de réactif de Schiff par de la fuchsine décolorée par l'acide sulfurique et la combinaison colorée bromée est recueillie dans le chloroforme. On compare l'intensité de la couleur obtenue avec des étalons colorés.

Le chlore et l'iode, à la condition qu'ils soient en faible proportion dans la solution, ne troublent pas la réaction.

J'ai suivi exactement la première technique de MM. Denigès et Chelle. En 1916, M. Lebeau (*loco citato*) a légèrement modifié cette technique et l'a rendue plus sensible encore; mais comme une partie de mes recherches avait déjà été faite avec le premier *modus faciendi*, je n'ai pas adopté cette modification afin que mes résultats demeurent absolument comparables.

Pour permettre une meilleure comparaison des solutions colorées et aussi pour pouvoir reprendre mes cendres par une quantité d'eau plus considérable, j'ai multiplié par cinq les proportions des réactifs employés par les auteurs.

1. *C. R. Ac. des Sciences*, t. CLV, p. 721, 1912.
2. *C. R. Ac. des Sciences*, t. CLV, p. 1010, 1912.

A 25 cm³ de solution à essayer, j'ajoute en agitant chaque fois :

1 cm³ de HCl. (D = 1,18).
5 cm³ d'acide sulfurique concentré.
5 cm³ de réactif (fuchsine décolorée par SO^4H^2).
1 cm³ de solution de chromate neutre de potasse à 10 pour 100.
5 cm³ de chloroforme.

Puis j'agite très vivement pendant 1 minute.

Les essais sont faits dans des tubes, bouchés à l'émeri, ayant 30 centimètres de hauteur et 15 millimètres de diamètre intérieur. Les bouchons sont rattachés aux tubes par des chaînettes. Le réactif est préparé de la façon suivante : on verse dans 100 cm³ d'acide sulfurique, au 20e en volume, 10 cm³ d'une solution de fuchsine au 1000e. Le mélange se décolore peu à peu. En une heure, il est prêt pour l'emploi.

Les étalons colorés doivent être préparés au moment du besoin, car ils se décolorent assez vite. Ils seront compris entre 0 mg., 5 et 0 mg., 05 de Br. C'est entre ces deux concentrations que l'appréciation de la coloration est la meilleure.

Comme on le verra plus loin, la reprise des cendres étant toujours effectuée par 30 cm³ d'eau, je prélève d'abord 5 cm³ de la solution pour faire un premier essai; j'étends, bien entendu, cette quantité à 25 cm³ en ajoutant de l'eau distillée.

Trois éventualités se produisent :

1° Je me trouve dans les limites sus-indiquées; j'ai alors le loisir de recommencer d'autres dosages, si besoin est.

2° Il y a trop de Brome. Je recommence l'essai avec des quantités inférieures à 5 cm³ (en complètant à 25 cm³ avec de l'eau).

5° Il n'y a pas assez de Brome. Je recommence l'essai avec les 25 cm³ restant, ce qui représente la quantité maxima de solution pouvant être mise en œuvre.

La méthode permet d'apprécier 0 mg., 01 Br. D'après M. Damiens (*loco citato*) qui, quelques années plus tard, a utilisé la méthode modifiée par M. Lebeau, on peut apprécier 0 mg., 005 Br ; mais, comme il l'écrit, l'erreur inhérente au dosage colorimétrique peut atteindre 50 p. 100 pour ces très faibles quantités.

Si on se tient entre les chiffres que j'ai indiqués pour mes dosages, l'erreur n'atteint plus qu'environ 10 p. 100.

Cette méthode me permettra donc de doser facilement et avec précision le Brome dans les organes, après destruction de la matière organique.

Je vais indiquer maintenant comment je traiterai au préalable les organes.

CHAPITRE II

DESSICCATION DES ORGANES

ET DESTRUCTION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE

§ 1. Dessiccation des organes.

La dessiccation des organes, lorsque l'on veut effectuer par la suite une extraction par un dissolvant des matières grasses, est indispensable et elle doit être opérée rapidement si on recherche le Brome sous forme de combinaison organique.

Les auteurs, dont nous avons étudié les travaux, ne paraissent pas s'être inquiétés de la question. Ils n'ignoraient pas cependant l'action hydrolisante, exercée particulièrement par le foie, qui, d'après Takeda, décompose 90 pour 100 de la molécule bromural en 3 heures (*loco citato*).

Deux procédés permettent d'obtenir une bonne dessiccation : le vide vers 0° et le traitement par le sulfate de soude anhydre.

Le premier procédé nécessite des appareils spéciaux et est moins rapide que le deuxième, que j'ai choisi.

Le second procédé donne d'excellents résultats. Le principe en est le suivant : Le sulfate de soude anhydre ($SO^4 Na^2$) s'empare de l'eau des organes pour donner du sel de Glauber ($SO^4 Na^2$, $10 H^2 O$) qui cristallise facilement. Le sel obtenu n'est entraîné ensuite qu'en très faible

proportion par les solvants employés, ce qui d'ailleurs ne gêne pas les expériences.

L'organe est haché et trituré immédiatement avec environ 80 grammes pour 100 de sulfate de soude anhydre. La bouillie est placée en couche mince sur un plateau de verre que l'on introduit sous la cloche contenant de l'acide sulfurique. Le mélange est friable au bout d'une heure et complètement sec en trois heures.

Ce procédé est indispensable à employer lorsque la fixation du Brome par alcalinisation de la bouillie d'organe ne doit pas être faite immédiatement, c'est-à-dire dans les cas où on fait subir aux organes une opération préalable à la destruction de la matière organique dont je vais parler maintenant.

La présence de trace de sulfate de soude, comme je l'ai dit, ne gêne pas les opérations ultérieures.

§ 2. **Destruction de la matière organique.**

Les auteurs dont j'ai étudié les travaux n'ont pas insisté sur leur méthode de destruction de la matière organique; ils emploient tous la calcination en présence de potasse ou de soude en ajoutant quelquefois un nitrate alcalin. C'est le procédé employé par Bourcet[1] dans son travail sur l'iode. Il est délicat et long. La calcination doit être faite au rouge sombre pour éviter la volatilisation des bromures; les cendres alcalines obtenues sont très abondantes et leur traitement demande beaucoup de temps. Nous avons préféré le procédé de Géneuil bien étudié par Labat[2]. Cette méthode consiste à traiter la matière organique par la magnésie. Celle-ci divise la masse, la rend poreuse et facilite beaucoup l'incinération.

1. Bourcet. *Thèse Doct. méd.*, Paris 1900.
2. *Loco citato*, p. 55.

L'organe pulvérisé est traité par le dixième de son poids frais de magnésie, ou par la moitié de son poids sec. Le mélange, intimement fait au mortier, est placé dans une capsule de platine à fond plat de 7 centimètres de diamètre et 2 centimètres de haut. On chauffe la capsule inclinée sur un triangle en terre réfractaire de façon à ce que la pointe de la flamme éclairante d'un bec Bunsen arrive en mourant sous la courbe inférieure de la capsule. De cette façon on évite toute volatilisation des bromures et trois heures suffisent généralement pour avoir des cendres à peu près blanches. On pulvérise les cendres au mortier, on reprend par l'eau, on fait bouillir et on filtre.

Pour terminer l'examen des méthodes que j'ai employées dans mon travail, il me reste à étudier la question de la séparation des lipoïdes et des albuminoïdes et aussi des composés bromés minéraux et organiques par les solvants organiques.

CHAPITRE III

EMPLOI
DES DISSOLVANTS ORGANIQUES
pour l'extraction des lipoïdes et la séparation des combinaisons bromées.

En me confiant ce travail, M. le Pr Carnot avait appelé mon attention sur l'importance qu'il y aurait à étudier spécialement les rapports du Brome ingéré avec les lipoïdes, que ce Brome soit ingéré sous forme minérale ou organique. J'ai donc été amené à étudier :

§ 1. La séparation des lipoïdes et des albuminoïdes.

Avant d'indiquer la méthode que j'ai employée, il est nécessaire de définir le mot lipoïde et de dire ce que l'on doit entendre par séparation des lipoïdes et des albuminoïdes.

D'après M. Linossier[1], qui vient de faire paraître sur ces composés un travail intéressant, on doit entendre par lipoïdes « des corps naturels, renfermant dans leur molécule des acides gras fixes ou de la cholestérine et présentant le plus ordinairement les propriétés physiques des graisses ».

1. *Les lipoïdes dans l'infection et l'immunité.* Paris, 1920.

C'est certainement une définition plus complète que celle-ci : substances analogues aux graisses et solubles dans les dissolvants de ces dernières.

Mais comme aucune méthode pratique et rapide ne permet de séparer les lipoïdes non solubles dans les solvants organiques, j'aurai en vue dans mes expériences les corps définis par leur solubilité dans le solvant organique adopté. On sait en effet que l'éther, l'alcool ou le chloroforme ne dissolvent pas exactement les mêmes composés. Les composés extraits par l'éther, par exemple, sont également susceptibles de se modifier, si bien qu'après évaporation l'éther ne les redissout plus qu'en partie. Il est probable que les composés que nous appelons « lipoïdes » ne sont que des combinaisons complexes où prédominent les matières grasses, mais où des particules étrangères sont probablement entraînées en combinaisons : ce qui explique l'insolubilité ultérieure dans le même dissolvant. Le produit séparé est en partie conditionné par la nature du dissolvant et son mode d'action.

J'indiquerai donc dans le cours de mes recherches quel est le solvant employé. Ce sera généralement le chloroforme, pour des raisons que j'exposerai dans le paragraphe suivant.

Les organes, séchés par le sulfate de soude anhydre seront placés dans la cartouche d'un appareil de Kumagawa et l'extraction sera prolongée jusqu'à ce que le solvant n'enlève plus rien.

L'appareil de Kumagawa, permettant d'opérer à une température voisine du point d'ébullition du dissolvant, donne des résultats très supérieurs au Soxlhet.

§ 2. La séparation du Brome sous forme de combinaison minérale ou organique.

Il eût été très important d'avoir une méthode rigoureuse pour déterminer si le Brome retrouvé dans les organes était de nature organique ou inorganique.

Les solvants organiques, qui pratiquement dissolvent les composés organiques sans dissoudre sensiblement les bromures, ont paru pouvoir fournir le moyen de séparer ces deux espèces de composés.

Plusieurs auteurs, précédemment cités, ont employé cette méthode. Je l'ai vérifiée et, sauf pour les urines, elle est incapable de donner des résultats précis; je vais indiquer pourquoi.

Le premier qui ait préconisé cette méthode est Takeda (*loco citato*). Il traite les organes après les avoir hachés, mais sans les dessécher par l'alcool à 90°, au bain-marie d'abord, puis dans un appareil de Soxlhet. Il est évident qu'il entraîne les lipoïdes, les combinaisons bromées organiques et les bromures, puisque son alcool mélangé au cerveau descend à un titre bien inférieur à 90°, que l'alcool à 90° dissout déjà 5 pour 100 de bromure à l'ébullition et que dans la méthode qu'il emploie il s'agit d'un épuisement.

La solution alcoolique est évaporée et reprise par l'eau. On se demande pourquoi l'auteur traite par l'eau; sans doute pour dissoudre les bromures. Le magma obtenu est agité avec de l'éther, et la quantité de Brome qu'il retrouve dans la solution éthérée est considérée par lui comme du Brome organique. Le résidu contient le Brome inorganique.

Or, on sait que si l'eau dissout 1/12e de son poids d'éther, l'éther dissout lui-même 5 pour 100 de ce liquide. Si on agite vivement 100 cm³ d'éther avec 10 cm³ d'une

solution contenant 0 gr., 1 de KBr, on retrouve dans la partie éthérée : 0 gr., 006 KBr, après une seule reprise.

L'éther dissout à froid environ 0 gr., 04 de KBr pour 100 cm^3.

Ces constatations faites, il était indispensable de savoir les quantités d'eau et d'éther employées par Takeda, quantités que cet auteur ne mentionne pas. J'ai heureusement trouvé ces renseignements chez Kwan (*loco citato*), qui emploie la méthode de Takeda et qui, en l'exposant, écrit : Le cerveau est réduit en bouillie, additionné de la moitié de son poids d'eau et agité trois fois avec quinze parties d'éther[1].

Un cerveau de lapin pesant environ 10 grammes et repris par 5 grammes d'eau doit donc être traité ensuite par 450 grammes d'éther. Je me suis placé exactement dans ces conditions : ayant au préalable ajouté quelques centigrammes de bromure de potassium à un cerveau de lapin, je l'ai traité par l'eau et l'éther. Les 450 grammes d'éther ont entraîné du bromure qui s'est chiffré par 0 gr., 0001 et 0 gr., 0002 de brome, quantité qui est indiquée dans un assez grand nombre de dosages de Takeda et de Kwan comme étant celle du Brome organique retrouvé dans l'éther (voir tableaux, pages 22 et 25). On voit que cela peut aussi bien provenir de bromures partiellement entraînés.

C'est dans le cerveau que Takeda et Kwan retrouvent le plus de Brome, parce que le cerveau de lapin ne pesant que 10 grammes environ, ils multiplient le chiffre de Brome retrouvé dans l'éther par 10 pour avoir la proportion pour 100.

Lorsque Takeda opère au contraire sur 100 grammes, pour le muscle par exemple, il est bien évident qu'il n'emploie pas 4 kg., 500 d'éther pour la reprise du magma; et comme le chiffre du Brome entraîné se rap-

1. Cet auteur néglige le traitement par l'alcool, ce qui n'a d'ailleurs aucune influence sur les résultats.

porte à 100 grammes, l'erreur n'est pas décuplée. Aussi ce dernier auteur trouve-t-il beaucoup moins de Brome dans les organes dont il traite un plus gros poids.

Avec cette méthode, il est donc impossible d'affirmer qu'il reste encore du Brome à l'état organique dans les tissus, lorsque le dosage fournit des chiffres aussi faibles.

Ayant pensé qu'aucune méthode ne permettait de résoudre avec sûreté la question de savoir si le brome introduit à l'état organique n'est pas entièrement détruit en peu de temps dans les organes, j'ai seulement cherché à savoir si le Brome donné sous forme minérale paraissait se fixer sur les lipoïdes dans une proportion notable.

Je me suis servi, à cet effet, du chloroforme, qui dissout bien les lipoïdes, qui n'entraîne que des traces de bromure minéral et qui a l'avantage de ne pas dissoudre des quantités appréciables d'eau.

La question qui se pose étant de savoir si le Brome se fixe sur les lipoïdes, cette manière de faire m'a semblé présenter une précision suffisante pour permettre de tirer de ces expériences des conclusions motivées.

TROISIÈME PARTIE

RÉSULTATS OBTENUS

CHAPITRE I

LE BROME
SOUS FORME DE COMBINAISON MINÉRALE

§ I. — Recherches *in vivo*.

a) *Répartition suivant les organes.*

Mes expériences portent d'abord sur la répartition du Brome suivant les organes, en faisant ingérer aux animaux choisis des doses déterminées de bromure de potassium et de bromure de sodium.

Mes premiers essais sont faits sur deux lapins, pesant respectivement 2 kg., 310 et 2 kg., 400, auxquels on administre du brome en combinaison minérale :

1 gramme par jour de bromure de potassium *per os* au premier ;

1 gramme par jour de bromure de sodium *per os* au deuxième.

Le traitement dure dix jours.

Après repos de 48 heures, destiné à permettre l'élimi-

nation des bromures en excès, ces animaux sont tués par saignée.

Le lapin, traité par le bromure de potassium, avait diminué de poids de 100 grammes environ, tandis que le lapin traité par le bromure de sodium pesait plus lourd.

Je transcris dans le tableau suivant les résultats obtenus[1] :

ORGANES	AVEC KBr			AVEC NaBr		
	Poids ou Volume.	Br dans l'essai en mg.	Br 0/0 en mg.	Poids ou Volume.	Br dans l'essai en mg.	Br 0/0 en mg.
Cerveau. . .	9 gr	9,6	106,6	9 gr 500	9.0	94,7
Sang	15 cm³	12,2	81,3	30 cm³	18,7	62,3
Foie.	10 gr	2,1	21,0	10 gr	3,0	30,0
Poumon . .	7 gr	1,8	25,7	7 gr	3,0	42,8

On voit par ces quelques chiffres que le dosage du Brome donne un pourcentage relativement élevé dans le cerveau et le sang, peu élevé dans le foie et le poumon et que les chiffres sont à peu près les mêmes, que l'on emploie le bromure de potassium ou de sodium.

Remarquons en passant que le lapin, qui avait reçu le bromure de potassium, présentait un état général beaucoup moins bon que l'autre à la fin du traitement et que l'on peut attribuer ce résultat à l'action nocive du potassium, beaucoup plus toxique que le sodium.

Je recommence des expériences analogues sur quatre lapins, mais en donnant des doses de bromure de potassium un peu plus fortes et en ne prolongeant le traitement que pendant sept jours. Les animaux sont saignés 12 heures seulement après la fin du traitement.

1. Ces résultats ont déjà été publiés en 1914. C. R. *Soc. biol.* L. XXVI, n° 14, p. 641.

Je transcris les résultats obtenus dans le tableau suivant :

	1		2		3		4	
Poids initial Poids final Bromure ingéré	5 kg 610 5 kg 550 10 gr 50		2 kg 420 2 kg 320 9 gr		5 kg 170 3 kg 060 9 gr 50		5 kg 250 5 kg 150 10 gr	
ORGANES	Br dans l'essai en mg.	Br 0/0 en mg.	Br dans l'essai en mg.	Br 0/0 en mg.	Br dans l'essai en mg.	Br 0/0 en mg.	Br dans l'essai en mg.	Br 0/0 en mg.
Cerveau. . .	4,50	44,11	3,75	39,89	3,0	33,33	3,75	37,12
Sang	30,0	200,0	27,0	180,0	24,0	160,0	32,0	215,0
Foie.	5,25	52,5	3,0	30,0	3,75	37,5	4,5	45.0
Poumon. . .	12,0	109,0	10,0	89,2	9,0 .	80,3	12,4	108,5
Rate	0,57	22,8	»	»	»	»	»	»
Pancréas . .	0,66	18,6	»	»	»	»	»	»
Muscle . . .	2,88	28,8	1.5	15,0	2.7	27,0	1,8	18,0

Les résultats consignés ci-dessus présentent quelques différences avec les précédents.

La quantité de Brome retrouvée dans le sang est bien plus considérable. Ce qui peut s'expliquer par le fait que les animaux ont été tués 12 heures seulement après la fin du traitement et qu'ils n'ont pas eu autant de temps pour éliminer les bromures.

La quantité de Brome retrouvée dans le cerveau est bien moins considérable, probablement parce que le traitement a duré moins longtemps (7 jours 1/2 au lieu de 12).

Dans le foie et surtout dans le poumon on retrouve une plus grande quantité du métalloïde, ce qui tient vraisemblablement à la plus grande quantité de Brome existant dans le sang.

Pour compléter cette première étude de la répartition du Brome suivant les organes, je mets en expérience deux chiens.

Le premier reçoit 70 grammes de bromure de potassium en 10 jours. Il est sacrifié douze heures après la fin du traitement en état de bonne santé apparente.

Le deuxième reçoit 55 grammes seulement de bromure, mais en 7 jours, et il est sacrifié le huitième jour dans un état de dépression extrême.

Ces deux animaux reçoivent à peu près la même quantité de bromure par rapport à leur poids et tandis que le premier supporte parfaitement la dose, le deuxième est profondément intoxiqué : ce qui tient vraisemblablement soit à une susceptibilité individuelle, soit à un mauvais état antérieur de l'animal.

Voyons quelle va être la répartition du Brome :

	1		2	
Poids initial Poids final Bromure ingéré	17 kg 17 kg, 500 70 gr.		20 kg, 500 19 kg, 600 55 gr.	
ORGANES	Br dans l'essai en mg.	Br 0/0 en mg.	Br dans l'essai en mg.	Br 0 0 en mg.
Cerveau	6,0	50,0	3,7	37,0
Sang.	27,61	180,0	23,8	238,0
Foie.	4,20	42,0	2,7	27,0
Poumon	3,75	37,5	27,76	138,8
Rate.	6,6	66,0	14,4	108.0
Pancréas	7,5	37,0	6,5	65 0
Muscle.	4,5	45,0	4,8	48,0
Rein	»	»	33,24	102,6

Si nous comparons les résultats obtenus avec les deux chiens, on voit que le deuxième chien, qui était fortement intoxiqué par le bromure et dont le fonctionnement naturel des organes était entravé, présente une grosse accumulation de Brome dans le sang.

On trouve aussi une assez grosse quantité de Brome dans le poumon, peu dans le foie et peu dans le cerveau.

Les chiffres obtenus avec le premier chien sont tout à fait comparables à ceux obtenus avec les quatre lapins.

Quand on opère dans les mêmes conditions, avec des animaux normaux, on voit que le Brome se localise de la même façon chez le lapin et le chien.

Ayant été amené dans le cours de mes recherches à effectuer des dosages de Brome dans le suc gastrique de l'homme soumis au traitement bromuré, et ce sujet ne comportant pas l'ouverture d'un chapitre spécial, je résume en quelques mots ce que j'ai à dire à ce propos :

Suc gastrique. — Comme nous l'avons vu dans la première partie, Nenky et Schoumow-Simanowski avaient conclu de leurs recherches sur le suc gastrique de chiens bromurés, que la présence de Brome augmentait l'acidité du suc gastrique, ce qu'ils expliquaient en faisant remarquer que le poids moléculaire de HBr est plus élevé que celui de HCl et que les deux acides se remplacent molécule à molécule (?).

Pour vérifier cette assertion, j'ai dosé l'acidité du suc gastrique chez des individus normaux et des hyperchlorhydriques, avant et après traitement bromuré et je n'ai trouvé aucune différence dans les chiffres d'acidité libre.

Les auteurs précédents attribuent cette acidité à l'acide bromhydrique, ce qui n'est qu'une hypothèse.

En effet, ils ont retrouvé dans le suc gastrique du Brome ayant remplacé partiellement le chlore, mais cela n'implique pas que HBr ait remplacé HCl. Le Brome et le chlore existent dans le suc gastrique, soit uni à l'hydrogène, soit en combinaison organique ou minérale. On peut faire des dosages du chlore total et du Brome total contenus dans le suc gastrique, mais à cela se bornent toutes les précisions que l'on peut avoir sur la répartition

de ces halogènes dans les diverses combinaisons envisagées.

En effet, que l'on vienne à changer l'équilibre du milieu « suc gastrique » par des réactifs ou des évaporations, les proportions relatives de ces combinaisons changent, comme il est facile de le comprendre : les deux halogènes se déplaçant l'un l'autre avec une extrême facilité.

On peut donc dans le suc gastrique doser seulement l'acidité libre (HCl + HBr) d'une part, le chlore et le brome total d'autre part. On ne peut aller au delà.

La moyenne des quantités de chlore total et de Brome total du suc gastrique trouvée chez des malades après quatre jours de traitement bromuré (2 grammes par jour de KBr) et après repas d'épreuve a été la suivante :

Cl total p. 1000 = 3,60. Br total p. 1000 = 0,55.

Après cette parenthèse, je reviens à la question de la répartition du Brome par rapport aux divers organes et aux conclusions que l'on peut tirer en lisant les chiffres des différents tableaux précédents : la répartition du Brome ingéré sous forme de bromure semble être conditionnée par la circulation sanguine qui en entraîne des quantités relativement considérables et répartit ainsi le Brome dans chaque organe suivant sa vascularisation. Cependant on retrouve des quantités notables de Brome dans le cerveau, même après cessation du traitement, lorsque le sang a eu le temps d'éliminer une partie des bromures. C'est là une constatation intéressante en faveur d'une attirance spéciale qu'exercerait le cerveau sur les composés bromés en combinaison minérale.

b) *Répartition du Brome dans la substance blanche et dans la substance grise.*

Pour éclaircir la précédente question, j'ai pensé qu'il fallait chercher comment se fait la répartition du Brome dans le cerveau et si la localisation dans la substance blanche ou la substance grise semble être en rapport avec la plus ou moins grande vascularisation de ces deux tissus.

Un chien pesant 20 kg., 500 reçoit chaque jour 10 gr. de bromure de potassium pendant six jours. Il est sacrifié le septième jour. Je prélève le cerveau que je refroidis vers 0° et je sépare la substance blanche de la substance grise. Chaque partie est traitée par la magnésie et on dose le Brome dans les cendres par la méthode ordinaire.

Le poids du cerveau total est de 78 grammes.

La substance blanche pèse à peu près le même poids que la substance grise. Je prélève 28 grammes de substance blanche et 22 grammes de substance grise pour le dosage.

Les résultats des dosages sont les suivants :

Substance blanche, Br : 9 mg. 99 dans la prise d'essai et 35 mg., 67 pour 100 grammes de substance blanche.

Substance grise, Br : 9 mg., 14 dans la prise d'essai et 41 mg., 54 pour 100 grammes de substance grise.

Ces chiffres montrent que la substance grise contient plus de Brome que la substance blanche.

Ce résultat paraît bien en rapport avec la plus grande quantité de sang existant dans la substance grise, qui est vascularisée pour son propre compte et qui est traversée en outre par les capillaires qui gagnent la substance blanche.

Aucune remarque intéressante, au point de vue de la localisation du Brome dans le cerveau, ne peut donc être tirée de cette expérience.

c) *Répartition du Brome par rapport aux albuminoïdes et aux lipoïdes.*

La séparation de la substance grise et de la substance blanche du cerveau ne m'ayant fourni aucun renseignement intéressant, j'ai séparé les albuminoïdes des lipoïdes et cherché si le Brome, administré sous forme de bromure, se fixait sur un de ces deux éléments en entrant en combinaison avec lui.

Quatre lapins, d'une part, ont été mis au traitement bromuré. Après sacrifice, j'ai réuni les quatre cerveaux pour effectuer la séparation des albuminoïdes et des lipoïdes, et rechercher ensuite le Brome.

Un chien bromuré, d'autre part, m'a servi à poursuivre les mêmes recherches. Pour ce deuxième animal j'ai exécuté en outre la séparation des lipoïdes et des albuminoïdes du foie et j'ai dosé le Brome après cette séparation.

1° *Les quatre lapins*, du poids de 3 kilogs en moyenne, reçoivent par jour 1 gr., 50 de bromure de potassium pendant six jours.

Ils sont sacrifiés, par saignée, 12 heures après la fin du traitement. L'ensemble des cerveaux pèse 59 gr., 600.

La matière cérébrale est aussitôt jetée dans un mortier avec 100 cm^3 d'alcool à 95° et triturée; puis on verse le tout dans une cartouche de l'appareil de Kumagawa suspendue au-dessus d'un récipient par une pince. L'excès d'alcool est recueilli ainsi par filtration et on le met de côté. La cartouche est placée ensuite dans l'appareil avec 150 cm^3 d'alcool absolu et on épuise pendant 12 heures.

Le résidu contient les albuminoïdes avec une fraction négligeable de lipoïdes non entraînés. Il contient éventuellement les combinaisons albuminoïdiques bromées. Les liquides alcooliques contiennent les lipoïdes avec leurs combinaisons bromées, si elles existent, et le bromure alcalin. On vérifie, en distillant un peu du dernier liquide d'extraction, si son titre alcoolique n'est pas trop élevé. Il marque 92°; ce qui permet d'être certain que le bromure alcalin a été complètement dissous par lui. On mélange les deux liquides alcooliques et on distille complètement l'alcool.

On obtient : 4 gr., 448 de produit dissous par l'alcool contre 3 gr., 708 d'albuminoïdes insolubles.

La recherche du Brome dans les albuminoïdes donne un résultat négatif.

La recherche du Brome dans l'extrait alcoolique m'amène à parler d'une méthode que j'avais essayée tout d'abord et dont les premiers résultats m'avaient paru satisfaisants, mais qu'après examen approfondi j'ai dû écarter.

Comme dans la méthode de Hayem et Winter, pour le suc gastrique, j'avais dans une autre série de recherches, que je ne transcris pas ici, fait deux parts de l'extrait alcoolique obtenu dans les mêmes conditions : j'en calcinais la moitié sans alcalinisation et l'autre moitié après alcalinisation; puis je dosais le Brome dans les deux échantillons incinérés. La différence entre les deux dosages devait me donner la quantité de Brome organique volatilisé. Cette méthode qui, au début et après vérification, m'avait paru bonne, me donna, à la suite de quelques autres essais, des résultats manifestement inexacts et je dus l'abandonner.

L'action réductrice de la matière organique à haute température peut, dans certaines conditions, décomposer les bromures. Cette méthode ne peut donc être adoptée.

Je reviens au traitement de l'extrait alcoolique prove-

nant des cerveaux de lapins, précédemment traités; je le reprends par le chloroforme à l'ébullition.

Je filtre. Le liquide chloroformique, qui contient en solution presque tous les lipoïdes, est évaporé. Le résidu est calciné avec la magnésie et je dose le Brome : je n'en trouve que des traces.

Au contraire, dans le résidu non soluble dans le chloroforme, je retrouve de grosses quantités de Brome, provenant évidemment du bromure non décomposé.

Il est évident que si une combinaison lipoïdique bromée s'était constituée, on aurait retrouvé des quantités notables de Brome dans l'extrait chloroformique, car on ne peut pas admettre que cette combinaison lipoïdique bromée ne soit soluble que dans l'alcool, et soit insoluble dans le chloroforme,

Je transcris ci-dessous les chiffres obtenus pour les dosages du Brome.

	BROME DANS LES 4 CERVEAUX RÉUNIS	BROME 0/0 D'ORGANE
Résidu insoluble dans l'alcool (albuminoïdes)	0	0
Produits solubles dans le chloroforme (lipoïdes).	traces	?
Résidu soluble dans l'alcool, mais insoluble dans le chloroforme	13 mg., 34	36 mg., 21

2° *Le chien* mis en expérience pèse 20 kilogs et reçoit pendant 5 jours, chaque jour, 10 grammes de bromure de potassium dans du sirop d'écorce d'oranges amères.

Il est tué le sixième jour par saignée.

Le foie et le cerveau sont immédiatement prélevés et déshydratés par le sulfate de soude anhydre.

Le cerveau desséché est traité par 100 cm³ de chloroforme pendant 1/4 d'heure à l'ébullition. On filtre et le chloroforme est évaporé.

On obtient une partie des lipoïdes, soit 5 gr., 782.

Le résidu, après le traitement précédent, est repris par 500 cm³ d'alcool à 90°, à l'ébullition pendant 12 heures, dans l'appareil de Kumagawa. Le soluté alcoolique est évaporé et laisse un extrait contenant le reste des lipoïdes et les bromures alcalins.

Cet extrait pèse 5 gr., 987.

On opère de la même façon pour le foie, qui donne 4 gr., 50 d'extrait chloroformique et 4 gr., 60 d'extrait alcoolique.

On obtient donc, en définitive, trois fractions : la première contient des lipoïdes dissous par le chloroforme et éventuellement des lipoïdes bromés ; la deuxième contient des lipoïdes dissous par l'alcool, éventuellement des lipoïdes bromés et du bromure de potassium, non décomposé ; la troisième partie, insoluble dans le chloroforme et l'alcool, contient les albuminoïdes, et, le cas échéant, les combinaisons albuminoïdiques bromées.

Le dosage du Brome effectué sur cette troisième partie me donne comme précédemment des résultats négatifs ; ci-dessous j'indique les résultats du dosage du Brome trouvé dans l'extrait chloroformique et dans l'extrait alcoolique du cerveau et du foie.

ORGANES	QUANTITÉ PRÉLEVÉE	BROME dans Extrait chloroformique en millig.	BROME dans Extrait alcoolique en millig.	BROME dans la partie insoluble dans les 2 solvants.
Cerveau. .	totale (80 gr)	0,15	28,7	0
Foie. . . .	totale (580 gr)	0,24	171,0	0

Si on néglige les chiffres de Brome trouvés dans le chloroforme, chiffres qui correspondent à peu près à la solubilité des bromures dans ce dissolvant, on peut conclure que tout le Brome se trouve dans l'extrait alcoolique et selon toutes probabilités sous forme de bromure alcalin dissous par l'alcool.

Ces résultats, comme les précédents obtenus chez le lapin, montrent donc qu'à la suite de l'ingestion de Brome en combinaison minérale, celui-ci n'entre en combinaison, ni avec les albuminoïdes, ni avec les lipoïdes. Pour les premiers nous en sommes certains; et pour les derniers il est inadmissible, comme nous l'avons déjà dit, de penser que s'il existe une combinaison du brome avec les lipoïdes, celle-ci ne concerne que des composés insolubles dans le chloroforme.

Dans le but de vérifier ces conclusions, je vais étudier maintenant *in vitro* si les bromures ont une affinité pour les corps gras et en particulier pour les lipoïdes.

§ 2. **Recherches *in vitro*.**

a) J'ai institué une première expérience pour vérifier *in vitro* ce que je venais de constater *in vivo*, c'est-à-dire l'absence de combinaison entre les bromures d'une part, les albuminoïdes et les lipoïdes de l'autre.

Une cervelle de mouton (90 grammes) est additionnée de bromure de potassium (0 gr., 10) et traitée ensuite par la méthode que je viens de décrire pour la cervelle du chien.

Je ne reviendrai donc pas sur les détails (le poids des deux extraits obtenus était sensiblement le même).

Les résultats du dosage du Brome ont été les suivants :

Brome dans la partie insoluble (albuminoïdes).	0 mg., 00
Brome dans l'extrait chloroformique.	0 mg., 16
Brome dans l'extrait alcoolique.	65 mg., 00
Brome retrouvé.	65 mg., 16

L'expérience *in vitro* est absolument comparable à l'expérience *in vivo* et appelle les mêmes remarques.

b) Existe-t-il un coefficient de partage entre l'huile et l'eau pour le bromure de potassium comme pour les composés organiques bromés?

Nous allons voir que non.

Le coefficient de partage est pratiquement le rapport de la quantité d'un corps dissous par l'huile d'olive — après agitation de celle-ci avec un volume égal d'une solution aqueuse de ce corps — et de la quantité restant dans l'eau après cette agitation.

L'huile n'enlève pas la moindre trace de bromure aux solutions de bromure de potassium, même concentrées.

c) Les composés bromés organiques dissous, même à dose infime, agissent sur les lipoïdes *in vitro* comme nous le verrons dans le chapitre suivant.

En est-il de même pour le bromure de potassium?

Pour étudier cette action possible, il s'agit de multiplier, autant que faire se peut, les surfaces de contact entre une solution de bromure de potassium et des lipoïdes cérébraux par exemple.

Pour obtenir ce large contact, voici comment j'opère : je prépare des lipoïdes en traitant par le chloroforme des cervelles de bœuf. La solution chloroformique obtenue est concentrée de moitié. Je découpe ensuite, dans du tulle, des rectangles de 14 cent. sur 4 cent. Le tulle a environ 3 mailles au centimètre. Ces rectangles sont placés dans des cuvettes plates dans lesquelles on verse une petite couche de lipoïdes en solution dans le chloroforme; on laisse évaporer le chloroforme et on obtient une trame de lipoïdes, ceux-ci se trouvant à peu près également répartis sur le tissu. On introduit ces rectangles, en leur donnant une forme cylindrique, dans des tubes à essais remplis d'une solution très exactement dosée de bromure de potassium (1 pour 100).

On laisse en contact deux jours et on dose à nouveau le bromure.

A la suite de plusieurs essais ainsi conduits, je n'ai constaté aucune différence entre les deux dosages, avant et après le contact lipoïdique. En ce qui concerne le Brome sous sa forme minérale, on peut donc dire qu'aucune affinité n'existe entre lui et les lipoïdes *in vitro*.

En résumé, le Brome sous sa forme minérale traverse l'organisme sans subir de décomposition et sans contracter d'union, ni avec les albuminoïdes, ni avec les lipoïdes.

Il est véhiculé par le sang qui le distribue dans les organes.

Sans pouvoir dire que le Brome sous forme de bromure a une grande affinité pour le cerveau, on est cependant en droit de dire que celui-ci en retient d'assez grandes quantités, surtout lorsque le traitement a été un peu prolongé.

CHAPITRE II

LE BROME

SOUS FORME DE COMBINAISON ORGANIQUE

§ 1. Recherches *in vivo*.

Parmi les composés bromés organiques que j'ai administrés à des animaux dans le but de rechercher ensuite le Brome dans les organes, je suis obligé de faire plusieurs catégories, peut-être d'une façon un peu arbitraire, mais je le fais pour simplifier l'exposé des résultats obtenus.

Dans la première catégorie je rangerai des composés de formules très diverses, assez toxiques et par cela même peu ou pas employées en thérapeutique.

Dans une deuxième catégorie je rangerai les composés d'une même famille : celle des dérivés amidés des acides α-bromés et des uréides de ces acides. J'étudierai d'abord trois de ces composés qui sont des hypnotiques employés en thérapeutique. Mais tous les corps de cette famille n'ont pas une action hypnotique : je relaterai en quelques lignes les travaux de M. Ardely sur les composés non hypnotiques de cette famille.

Enfin, dans une troisième catégorie, je rangerai les graisses naturelles bromées et relaterai les expériences faites sur des animaux auxquels j'ai fait ingérer des lipoïdes cérébraux bromés.

a) ***Première catégorie. Composés divers.***

Comme je viens de l'écrire je range dans cette catégorie des composés organiques bromés divers : le bromal ($CBr^3 CHO$), le bromoforme ($CHBr^3$), la tribromhydrine ($C^3 H^5 Br^3$), l'éosine ($C^{20} H^8 Br^4 O^5$).

Je vais indiquer le protocole de chaque recherche, puis je grouperai les chiffres obtenus pour le dosage de Brome en un seul tableau à la suite duquel je ferai les observations concernant les résultats enregistrés.

I. BROMAL. — Ayant fait ingérer à deux lapins des doses trop fortes de ce produit, leur mort a suivi presque immédiatement l'ingestion et je n'ai pas retrouvé de Brome dans le cerveau.

J'ai renouvelé l'essai en injectant 2 cm^3 d'une solution de bromal à 0 gr., 08, soit 0 gr., 16 par jour de bromal pendant 5 jours à un lapin de 1800 grammes que l'on a trouvé mort le 4e jour. J'ai prélevé son cerveau et j'y ai trouvé 0 mg., 55 de Brome pour 100.

II. BROMOFORME. — J'ai déterminé la mort presque immédiate d'un lapin, en lui faisant ingérer 10 cm^3 d'une solution glycéro-alcoolique contenant 70 cen igr. de bromoforme.

Un second lapin de 2400 grammes reçoit *per os* 0 gr., 14 de bromoforme par jour en solution glycéro-alcoolique pendant 10 jours. Il est tué 24 heures après la fin du traitement. En raison de la volatilité du bromoforme, les organes sont prélevés, coupés finement et soumis à l'ébullition dans l'alcool à 90° additionné de potasse alcoolique, pour fixer immédiatement le rome à l'état de bromure; puis on chasse l'alcool et on traite les extraits pour la destruction de la matière organique comme à l'ordinaire. On dose ensuite le brome dans les cendres.

Un chien de 17 kg, 700 reçoit chaque jour 8 cm^3 de soluté glycéro-alcoolique de bromoforme du codex au dixième pendant 9 jours. Il est saigné le 11e jour. Comme pour le lapin, on traite d'abord les organes par la potasse alcoolique, on détruit la matière organique et on dose le brome dans les cendres.

Les résultats de ces deux expériences seront relatées dans le tableau qui suit.

III. TRIBROMHYDRINE. — Un lapin de 2150 grammes reçoit *per os* 2 cm^3 d'une solution à 5 pour 100 de tribromhydrine dans l'alcool à 80°, le premier jour, puis 4 cm^3 chaque jour pendant les 7 jours suivants. L'animal est saigné 48 heures après la fin du traitement. Il ne pèse plus que 1610 grammes. (Poids moyen 1870 grammes.)

Incinération et dosage du Brome comme à l'ordinaire.

IV. EOSINE. — Un lapin de 1 kg 950 reçoit chaque jour, pendant 3 jours, 2 cm³ d'une solution d'éosine à 10 pour 100. Il est tué le 4e jour. A l'ouverture du cadavre, on trouve le tissu conjonctif fortement coloré par le produit ainsi que l'estomac ; l'intestin, le cerveau ne sont pas colorés.

Incinération et dosage du Brome comme à l'ordinaire.

Ci-dessous sont transcrits les chiffres de dosage du Brome dans les organes de ces divers animaux.

COMPOSÉ BROMÉ	DOSE de Br, donnée en mg.	CERVEAU		SANG		FOIE		POUMON	
		Br dans l'essai en mg.	Br 0/0 en mg.	Br dans l'essai en mg.	Br 0/0 en mg.	B. dans l'essai en mg.	Br 0/0 en mg.	Br dans l'essai en mg.	Br 0/0 en mg.
Bromal.	400	0,05	0,55	»	»	»	»	»	
Bromoforme (lapin)	1528	0,75	7,75	1,80	12,00	0,84	8,40	1,08	9,81
Bromoforme (chien).	7200	0,90	6,05	6,00	40,00	1,20	12,00	5,75	37,50
Tribromhydrine .	1566	2,20	24,44	6,30	42,00	2,20	22,00	1,80	16,36
Éosine.	296	0,20	2,10	1,90	12,66	1,10	11,00	1,80	18,00

Pour cette première catégorie de produits organiques bromés, on peut conclure que le Brome se retrouve surtout dans le sang. Pour les autres organes cela dépend du produit et de l'animal considéré. Le poumon renferme beaucoup de Brome chez le chien, probablement parce que le sang de ce même animal en contient lui-même beaucoup. Le cerveau en retient très peu, sauf pour la tribromhydrine et il y aurait lieu de reprendre plus tard avec ce produit, malheureusement assez toxique, de nouveaux essais.

Les composés étudiés, sauf en ce qui concerne ce dernier produit, ne paraissent donc avoir aucune affinité pour le cerveau.

Voyons maintenant si les composés, doués de propriétés hypnotiques, se localisent de préférence dans cet organe.

b) *Deuxième catégorie. Composés dérivant des acides organiques α-bromés.*

Dans cette catégorie, je range les composés appartenant à la même famille et dérivant d'acides organiques α-bromés.

Depuis que j'ai commencé ce travail, divers auteurs, dont j'ai relaté les travaux, ont déjà recherché la localisation du Brome dans les organes en faisant ingérer du neuronal, du bromural et de l'adaline[1].

J'ai fait des expériences semblables avec la méthode de dosage, beaucoup plus précise, de Denigès et Chelle.

Mes résultats s'écartent peu de la moyenne de ceux précédemment publiés. Trois lapins pesant respectivement 2 kg., 100, 1 kg., 950 et 2 kg., 300 reçoivent, en émulsion avec de la gomme, 1 gramme de chaque produit par kilog d'animal. Ils commencent à tituber au bout d'une demi-heure, puis restent somnolents. Ils sont tués six heures après l'ingestion, par saignée.

Je transcris, à la page suivante, les chiffres de dosage du Brome dans les organes.

En examinant ces résultats, on peut voir que la localisation de ces trois composés n'est pas très différente. Toutefois, le Brome provenant du neuronal se retrouve nettement en plus grande quantité dans le cerveau et le sang que le Brome provenant des deux autres produits. Ceci peut, peut-être, s'expliquer par la proportion un peu plus grande de Brome qu'il y a dans la molécule de neuronal : 41 pour 100 au lieu de 35 pour 100 pour le bromural et 33 pour 100 pour l'adaline; il y a donc eu un peu plus de Brome introduit avec le neuronal.

1. Voir note p. 20.

LAPINS	BROMURAL			NEURONAL			ADALINE		
	POIDS : 2 KG. 100			POIDS : 1 KG. 950			POIDS : 2 KG. 300		
ORGANES	Quantité traitée.	Br dans l'essai en mg.	Br °/₀ en milligr.	Quantité traitée.	Br dans l'essai en mg.	Br °/₀ en milligr.	Quantité traitée.	Br dans l'essai en mg.	Br °/₀ en milligr.
Cerveau.	9 gr.	0,35	3,88	9 gr.	0,43	4,77	9 gr. 50	0,29	3,05
Sang. . .	15 cm³	2,00	13,33	15 cm³	2,25	15,00	15 cm³	1,80	12,00
Foie. . .	10 gr.	0,96	9,60	10 gr.	0,66	6,60	10 gr.	0,90	9,00
Poumon.	11 gr. 50	0,87	7,56	11 gr.	0,90	8,19	12 gr.	0,50	4,16

Comme pour les autres combinaisons bromées organiques, le cerveau ne retient que des quantités assez faibles de Brome, contrairement à ce que l'on pouvait présumer.

Ce qui nous amène à penser que le Brome ne possède peut-être pas, lorsqu'il est en combinaison organique, une action véritablement spécifique sur le système nerveux.

C'est ce que pensent aussi MM. Tiffeneau et Ardely [1], à la suite de leurs recherches sur les composés de cette famille. Ces auteurs écrivent, au sujet des combinaisons bromées :

« On pourrait être tenté de faire jouer un rôle important à l'atome de Brome. Or, celui-ci ne paraît intervenir autrement que comme renforçateur de l'action hypnotique, car les dialcoylacétylurées, notamment la diéthylacétylurée et ses homologues supérieurs sont nettement hypnotiques. De plus, l'influence de l'halogène n'est nullement spécifique, car la chloro-isovalérylurée est aussi active que le dérivé bromé correspondant. »

1. *Bull. scienc. pharmac.*, t. XXVIII, n° 3, 1921.

Pour ces auteurs, c'est la chaîne carbonée, par sa forme plus ou moins ramifiée, qui détermine l'action hypnotique.

Si l'absence de Brome ne paraît pas nuire à l'action hypnotique de ces composés, sa présence ne détermine pas non plus une action sur le système nerveux, même pour des composés de formule très voisine, comme l'a montré M. Ardely[1] dans son travail « sur quelques α-bromoacidylurées linéaires ».

Cet auteur ayant suivi notre méthode de recherche du brome dans les organes l'applique, après avoir fait ingérer à des chiens de la diéthylbromacétylurée (adaline) d'une part, et de la bromocaproylurée, d'autre part.

Il obtient les chiffres de dosage suivants :

ORGANES	DIÉTHYLBROMACÉTYLURÉE Br % EN MILLIGRAMMES		BROMOCAPROYLURÉE Br % EN MILLIGRAMMES
	VI	VII	
Cerveau. . .	5,9	4,8	3,2
Sang	14,0		14,5

Les chiffres de Brome retrouvé sont assez voisins, et cependant l'adaline a une action hypnotique alors que la bromocaproylurée est absolument dépourvue de toute action sur le système nerveux.

Pour cet auteur, la différence d'action entre ces deux combinaisons très voisines est liée à leur solubilité différente dans l'eau et les graisses. Nous verrons à la fin de ce chapitre l'importance que l'on doit certainement accorder à cette question de solubilité au point de vue de l'action des composés organiques dans l'organisme.

Pour compléter l'étude faite dans ce paragraphe, il eût

1. Thèse doct. pharmac. Paris, 1916.

fallu séparer, comme ont essayé de le faire quelques expérimentateurs, le Brome organique du Brome minéral dans les différents organes, afin de connaître plus exactement la destinée du Brome ingéré sous forme de combinaison organique.

Nous avons expliqué pourquoi nous n'avons pas abordé cette étude, n'ayant pas trouvé de méthode pouvant assurer une précision suffisante à la poursuite de ces recherches. Mais on peut dire avec certitude que le Brome lié à la molécule organique, comme l'ont constaté les auteurs dont j'ai exposé les travaux, se sépare de cette molécule pour passer à l'état de combinaison minérale. Qu'il subsiste de petites quantités de composé primitif non modifié, ceci reste à prouver.

c) ***Troisième catégorie. Lipoïdes cérébraux bromés.***

Pour introduire le Brome chez l'homme, Winternitz avait préconisé l'emploi de l'huile bromée qui permettait de faire pénétrer sans inconvénient d'assez grosses quantités de Brome dans l'organisme. D'après cet auteur c'était un moyen d'accumuler le Brome dans les organes et d'en régulariser la répartition par suite de la décomposition lente de la combinaison ingérée.

L'huile bromée, désignée sous le nom de *bromipine*, a été employée à cet effet comme succédané des bromures. Je n'ai pas fait de recherches en employant ce produit. J'ai préféré me servir, comme véhicule du Brome, des graisses mêmes de l'organisme et j'ai préparé des lipoïdes cérébraux bromés.

Une cervelle de bœuf épuisée par le chloroforme donne environ 60 grammes de lipoïdes qui sont traités par une solution de 12 grammes de Brome dans le chloroforme. Le mélange d'abord coloré par le Brome en rouge orange pâlit rapidement par suite de la combinaison du Brome avec les corps gras. On distille le chloroforme à basse

température dans le vide. Pour vérifier le titre du produit on dose le Brome dans 1 gramme des lipoïdes bromés obtenus.

Expérience sur le chien :

Un chien de 11 kg., 500 reçoit chaque jour, mélangés à sa nourriture pendant 10 jours, 5 grammes de lipoïdes cérébraux de bœuf bromés à 20 pour 100, représentant 10 grammes de Br.

Après repos de deux jours, le chien est tué par saignée.

Je transcris ci-dessous les chiffres indiquant les quantités de Brome trouvé dans les divers organes.

ORGANES	POIDS OU VOLUME	BROME DANS L'ESSAI	BROME °/₀ EN MILLIGR.
Cerveau	65 gr.	8,11	12,46
Sang	15 cm³	11,25	75,0
Foie	10 gr.	3,0	30,0
Poumon	10 —	6,0	60,0
Rate	10 —	3,75	37,5
Pancréas	10 —	2,1	21,0
Muscle	10 —	1,2	12,0

L'examen de ces chiffres montre que le Brome se retrouve surtout dans le sang et dans le poumon. Le cerveau en contient peu comme dans le cas des composés bromés organiques précédemment étudiés. On pourra d'ailleurs comparer ces chiffres avec ceux qui ont été obtenus avec les autres produits bromés, à la fin de ce chapitre, où j'établirai le rapport suivant :

$$\frac{\text{Brome retrouvé pour 100 d'organe}}{\text{Brome donné pour 100 d'animal.}}$$

Il me reste, comme je l'ai fait pour les bromures, à examiner si *in vitro* les composés bromés organiques ont une affinité pour les lipoïdes.

§ 2. Recherches *in vitro*.

a) *Coefficient de partage.*

Le coefficient de partage, dont nous avons déjà parlé, constitue un procédé commode pour se rendre compte, avec l'huile et l'eau, de la quantité de composé organique pouvant être soustraite à l'eau par l'huile. C'est la simplification à l'extrême pour une étude *in vitro* de l'opération qui se produit probablement dans l'organisme.

Malheureusement, l'huile est loin d'avoir la même constitution chimique que les lipoïdes, et la consistance de ces derniers ne permet pas d'opérer avec eux directement.

J'ai essayé de les amener à l'état de division extrême, d'en faire une sorte d'émulsion et de voir ensuite si cette émulsion était susceptible d'entraîner avec elle les composés organiques en solution.

On obtient bien l'émulsion, mais lorsqu'on la mélange à la solution des composés organiques, il est impossible ensuite de l'en séparer. C'est à la suite de cette constatation que j'ai été amené à examiner l'effet d'une solution de produits organiques bromés sur les lipoïdes en multipliant les surfaces de contact.

b) *Action des solutions très étendues de produits organiques sur les lipoïdes.*

J'opère comme précédemment pour les bromures. Je prépare des tulles imprégnés de lipoïdes et je les place dans des tubes à essais avec une solution d'adaline à 0 gr., 1 pour 1000 par exemple.

Au bout d'une heure, la trame lipoïdique a perdu la netteté de ses contours; le liquide est devenu opalescent. Il ne peut être clarifié par filtration. J'en évapore

10 cm^3 et j'obtiens un résidu sec de 6 mg., 8 qui doit contenir comme la solution d'adaline témoin 1 milligramme d'adaline, soit en Brome 0 mg., 35.

Le dosage de Brome me donne exactement ce chiffre. Un deuxième essai, en laissant en contact plus longtemps la trame lipoïdique avec la solution d'adaline, me donne le même résultat.

Dans ce deuxième essai, la quantité de lipoïde entraîné dans la solution est un peu plus élevée (18 mg.), mais cela ne change pas sensiblement la concentration de la solution primitive.

Les liquides opalescents obtenus par contact des lipoïdes avec les solutions de composés organiques bromés constituent des émulsions stables de lipoïdes à l'état de très grande division. Ce ne sont ni des solutions simples, ni des solutions colloïdales.

Les composés organiques non bromés, comme le sulfonal et le véronal, se comportent de la même façon vis-à-vis des lipoïdes.

Avant de tirer les conclusions générales de ce travail, j'ai pensé qu'il serait utile de mettre sous les yeux du lecteur un tableau d'ensemble résumant toutes les expériences concernant la localisation du Brome dans le cerveau et les autres organes.

Pour faciliter la comparaison des résultats, j'ai établi le rapport entre le Brome retrouvé dans 100 grammes d'organe et le Brome ingéré pour 100 grammes d'animal.

Je transcris donc ci-dessous les chiffres représentant le quotient :

$$\frac{\text{Br retrouvé pour 100 grammes d'organe,}}{\text{Br ingéré pour 100 grammes d'animal.}}$$

Plus le chiffre obtenu *avec le même composé bromé* est élevé, plus grande est l'affinité du Brome pour le tissu

considéré. Plus le chiffre obtenu *avec le même organe* est élevé, plus grande est l'affinité du brome employé sous la *combinaison* envisagée.

$$\frac{\text{Brome retrouvé pour 100 d'organe}}{\text{Brome donné pour 100 d'animal}} =$$

COMPOSÉ ÉTUDIÉ	ANIMAL	PAGE	CERVEAU	SANG	FOIE	POUMON	RATE	PANCRÉAS	MUSCLE
Bromure de potassium.	Lapin	47	0,36	0,27	0,07	0,08	»	»	»
Bromure de sodium . .	Lapin	47	0,29	0,19	0,09	0,13	»	»	»
Bromure de potassium.	Lap. 1	48	0,22	1,02	0,26	0,57	0,11	0,09	0,14
— —	Lap. 2	48	0,16	0,70	0,11	0,35	»	»	0,06
— —	Lap. 3	48	0,16	0,78	0,18	0,37	»	»	0,13
— —	Lap. 4	48	0,17	1,01	0,21	0,51	»	»	0,08
— —	Chien1	49	0,18	0,66	0,15	0,49	0,24	0,14	0,16
— —	Chien2	49	0,19	1.25	0,14	0,72	0,56	0,34	0,25
Bromal.	Lapin	62	0,25	»	»	»	»	»	»
Bromoforme	Lapin	62	0,14	0,22	0,16	0,18	»	»	»
—	Chien	62	0.15	1,02	0,30	0,96	0,61	0,30	0,12
Tribromhydrine.	Lapin	62	0,31	0,54	0,28	0,20	»	»	»
Eosine	Lapin	62	0,14	0,84	0,73	1,20	»	»	»
Bromural.	Lapin	62	0,11	0,38	0,27	0,21	»	»	»
Neuronal	Lapin	64	0,11	0,35	0,15	0,19	»	»	»
Adaline.	Lapin	64	0,09	0,36	0,27	0,12	»	»	»
Lipoïdes bromés . . .	Chien	67	0,14	0,86	0,34	0,69	0,45	0,24	0,14

Je ne reviendrai pas sur l'examen détaillé des résultats résumés dans ce tableau. Mais il ressort dans l'ensemble qu'avec une même quantité de Brome ingéré :

La teneur du cerveau en brome est plus élevée après ingestion de Brome en combinaison minérale.

La teneur du sang en Brome est également un peu plus élevée après ingestion de bromures; il en est de même pour le poumon :

La teneur du foie en Brome est plus élevée après ingestion de composés organiques.

Il me reste à tirer les conclusions générales de ce travail.

CONCLUSIONS

Les conclusions les plus importantes que l'on peut tirer de ce travail sont les suivantes :

1° Le *Brome*, ingéré sous forme de bromure de potassium ou de sodium par le chien ou le lapin, se retrouve en grande quantité dans le sang. Ce dernier le véhicule à travers l'organisme de sorte que l'on retrouve le Brome en quantité plus grande dans les organes très vascularisés.

2° Il faut remarquer, toutefois, que la *matière cérébrale retient plus de Brome* que son état de vascularisation ne permet de le supposer.

On retrouve d'autant plus de Brome dans le cerveau que le traitement a été de plus longue durée et, comme la concentration dans le sang n'augmente pas en proportion de la durée du traitement, il semble bien que le Brome, administré sous forme de bromure, a une certaine affinité pour cet organe.

Dans le cerveau lui-même, la substance grise retient plus de brome que la substance blanche : mais ce fait peut être en rapport avec la plus grande vascularisation de la première.

3° Le *Brome* ingéré sous forme minérale ne contracte *aucune combinaison* avec les *albuminoïdes*. Il ne contracte pas non plus de combinaison avec les *lipoïdes* et est retenu dans les organes sous sa combinaison primitive.

4° *In vitro*, le bromure de potassium est *sans aucune action sur les albuminoïdes et les lipoïdes*.

5° Le *Brome* ingéré sous forme de combinaison organique se retrouve dans le sang, mais en moins grande quantité qu'après ingestion de bromures.

Il se retrouve aussi en notable quantité dans le foie.

6° Le *cerveau* en *contient toujours peu*, contrairement à ce que l'on pouvait présumer.

7° Déplacé de sa combinaison organique, qui se trouve rapidement et probablement totalement détruite, *le Brome est retenu dans les organes sous forme de combinaison minérale.*

8° *In vitro*, les composés bromés organiques, même en solution très étendue, *agissent* sur les *lipoïdes* et les *émulsionnent*. Leur action dans l'organisme est donc intimement liée à leur *solubilité* dans le sang, grâce à laquelle ils peuvent entrer en contact avec les lipoïdes contenus dans les tissus.

Cette constatation s'applique aussi bien à la plupart des composés organiques employés en thérapeutique et ne possédant pas de brome dans leur molécule.

9° L'action de la molécule « Brome » paraît d'ailleurs peu spécifique dans les combinaisons organiques : on peut dire que si le *Brome* ingéré sous forme de combinaison minérale, et localisé en assez forte proportion dans le cerveau, *joue par sa présence dans la molécule un rôle indispensable* au point de vue thérapeutique, il n'en est pas de même du Brome ingéré sous forme de combinaison organique, sa présence dans la molécule n'entraînant pas obligatoirement une action de celle-ci sur le système nerveux.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 1

PREMIÈRE PARTIE. — Exposé des recherches antérieures.

CHAPITRE I. — Localisation et élimination des bromures alcalins 6

CHAPITRE II. — Localisation et élimination du brome en combinaison organique 16

CHAPITRE III. — Le brome existe-t-il normalement dans les organes 29

DEUXIÈME PARTIE. — Méthodes de recherches.

CHAPITRE I. — Dosage du Brome 33

CHAPITRE II. — Traitement des organes :
§ 1. Dessiccation des organes 38
§ 2. Destruction de la matière organique 39

CHAPITRE III. — Emploi des dissolvants organiques :
§ 1. Extraction des lipoïdes 41
§ 2. Séparation des combinaisons bromées . . . 43

TROISIÈME PARTIE. — Résultats obtenus.

CHAPITRE I. — Le brome sous forme de combinaison minérale.
§ 1. Recherches *in vivo* après ingestion 46
a) Répartition suivant les organes 46
b) Répartition dans la substance blanche et dans la substance grise 52
c) Répartition par rapport aux albuminoïdes et aux lipoïdes 53
§ 2. Recherches *in vitro* 57

CHAPITRE II. — Le brome sous forme de combinaison organique.
§ 1. Recherches *in vivo* après ingestion 60
a) Première catégorie 61
b) Deuxième catégorie 65
c) Troisième catégorie 66
§ 2. Recherches *in vitro* 68

CONCLUSIONS 71